

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

VIRULENCE DE L'ULTRAVIRUS HERPÉTIQUE ADMINISTRÉ PAR VOIES NASALE ET DIGESTIVE. MÉCANISME DE SA NEUROPROBASIE (1) CENTRIPÈTE

par C. LEVADITI, G. HORNUS et P. HABER.

(*Service de M. Levaditi, Institut Pasteur.*)

L'étude du mécanisme qui préside à la pénétration de certains virus neurotropes, en particulier celui de la poliomyélite à travers les muqueuses des voies aériennes supérieures et du tube digestif, est à l'ordre du jour. Des chercheurs américains ont relaté des données expérimentales mettant en lumière le rôle prépondérant des connexions nerveuses, en tant que voie de dispersion du virus poliomyélitique dans l'organisme réceptif. L'un de nous, en collaboration avec Landsteiner, Pastia et Danulesco (2), a apporté, il y a déjà longtemps, de précieuses contributions à la solution du problème; c'est ce qui nous a engagés à en entreprendre de nouveau l'étude dans le domaine de l'herpès expérimental. L'infection herpétique du lapin, du cobaye et de la souris offre, en effet, plus d'une analogie avec la poliomyélite des espèces simiennes, les deux virus, celui de

(1) Par le terme *neuroprobasie* (de νεύρο, nerf, et προβολις, marche en avant), Levaditi (*L'Herpès et le Zona*, 1926, Masson, édit.) a désigné le phénomène de la propagation des ultravirus neurotropes le long des connexions nerveuses.

(2) Cf. LEVADITI. *Les Ectodermoses neurotropes*, Paris, 1922, Masson, éditeur.

l'herpès et celui de la paralysie infantile, tous deux neurotrops, ne différant que par l'affinité dermatrope extrêmement accusée chez le premier de ces germes. Ces considérations, et l'avantage d'une expérimentation sur les petits animaux de laboratoire, nous ont incités à réaliser les investigations qui font l'objet du présent mémoire. Avant d'en exposer les détails, jetons un coup d'œil sur les données déjà acquises dans ce domaine.

*
* *

I. POLIOMYÉLITE. — a) *Voies aériennes supérieures.* — La pénétrabilité du virus de la poliomyélite à travers les muqueuses des voies aériennes supérieures, en particulier le revêtement naso-pharyngé, a été démontrée en 1910 par Leiner et Wiesner (1) et par Flexner et Lewis (2). Les premiers ont d'abord cocaïnisé la muqueuse naso-pharyngée des singes, puis ont essayé de leur conférer la paralysie infantile: 1° en leur faisant inhaler des émulsions névrauxiques virulentes; 2° en badigeonnant leur muqueuse nasale avec du virus frais; 3° en leur inoculant le même virus par voie trachéale. Plusieurs de ces tentatives ont été couronnées de succès, en ce sens que la poliomyélite s'est déclarée après une incubation de cinq, onze et quatorze jours. De leur côté, Flexner et Lewis ont transmis l'infection en scarifiant, au préalable, la muqueuse nasale d'un *Macacus rhesus* et en y déposant le germe; la maladie est apparue, chez cet animal, six jours après l'intervention.

De tels résultats positifs étaient, cependant, inconstants. Au début de leurs études, Landsteiner et Levaditi (3), n'ayant pas réussi à les confirmer, se sont demandé, avec Stanesco (4), si « des lésions préalables de la muqueuse, traumatiques ou inflammatoires, n'étaient pas nécessaires pour préparer la voie, et cela d'autant plus que de telles altérations ont été constatées au niveau de la muqueuse olfactive chez les simiens neufs vivant en captivité ». En fait, Levaditi et Landsteiner (*loc. cit.*)

(1) LEINER et WIESNER. *Wien. klin. Woch.*, 23, n° 3, 1910, p. 91.

(2) FLEXNER et LEWIS. *Journ. of Amer. med. Assoc.*, 54, 1910, p. 535.

(3) LANDSTEINER et LEVADITI, *Ces Annales*, 24, 1910, p. 833.

(4) LEVADITI et STANESCO. *C. R. Soc. Biol.*, 68, 1910, p. 665.

montrent qu'il est possible de conférer la paralysie infantile aux simiens, si l'on a soin d'injecter le virus sous la muqueuse olfactive, au niveau des cornets.

Ultérieurement, Levaditi et Danulesco (1), s'adressant à une souche de virus poliomyélitique éminemment virulente [souche anglaise de Gordon (2)], constatent que le simple dépôt du germe à la surface de la muqueuse nasale (sans nul traumatisme préalable) au moyen d'un tampon imbibé, ou d'un pinceau, fournit presque à coup sûr des résultats positifs chez les simiens sensibles. Confirmée ultérieurement par Flexner et ses collaborateurs, cette constatation a fait l'objet d'investigations récentes de la part de Rhoads (3), Weyer, Park et Banzhaf (4), Kling, Levaditi et Hornus (5), Plotz (6), entre autres. La transmission par voie olfactive est d'autant plus certaine que l'on répète les instillations pendant trois jours consécutivement. Le rôle de l'activité pathogène de la souche utilisée est incontestable, ainsi qu'il ressort des données relatées par Schultz et Gebhart (7). Deux échantillons de virus, celui d'Aycok et celui de S. Flexner, se sont révélés inégalement virulents par instillation nasale, les différences étant en rapport avec leur puissance morbigène évaluée par des voies autres que celle du naso-pharynx. Il semblerait, d'ailleurs, que la muqueuse olfactive des simiens sécrète, chez l'homme et le singe, des mucosités capables de neutraliser *in vitro* le virus poliomyélitique [Cf les recherches d'Amoss et Taylor (8) et de Flexner et Amoss (9)], ces propriétés virulicides étant indépendantes de celles du sérum sanguin.

Quoi d'étonnant si, dans ces conditions, les réactions (acide ou alcaline) du mucus nasal, modifiées au moyen de lavages préalables des narines par des solutions M/15 de phosphate de sodium et de potassium, influencent la réceptivité? Schultz et Gebhardt (*loc. cit.*) montrent, en effet, que l'incidence des

(1) LEVADITI et DANULESCO. *C. R. Soc. Biol.*, 72, 1912, p. 606 et 651.

(2) LEVADITI, GORDON et DANULESCO. *C. R. Soc. Biol.*, 71, 1911, p. 651.

(3) RHOADS. *Journ. of exp. Med.*, 53, 1931, p. 115.

(4) WEYER, PARK et BANZHAF. *Journ. of exp. Med.*, 53, 1931, p. 553.

(5) KLING, LEVADITI et HORNUS. *Bull. Acad. Méd.*, 144, 1934, p. 709.

(6) PLOTZ. *Idem.*, p. 721.

(7) SCHULTZ et GEBHARDT. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 30, 1933, p. 1010.

(8) AMOSS et TAYLOR. *Journ. exp. Med.*, 25, 1917, p. 507.

(9) FLEXNER et AMOSS. *Idem*, 31, 1920, p. 423.

infections par voie nasale augmente chez les simiens, après irrigation des fosses nasales avec des solutions acides.

Ainsi, de 1910 à 1934, de nombreux expérimentateurs mettent en lumière la *réceptivité du singe à l'égard de l'infection poliomyélitique conférée par les voies aériennes supérieures, en particulier par la muqueuse naso-pharyngée*. Toutefois, démontrer que le virus est susceptible de pénétrer à travers cette muqueuse, ne suffit pas pour expliquer le mode naturel de la propagation de la maladie de Heine-Medin par voie nasale. Il faut, cela va de soi, prouver également que le germe s'élimine par les sécrétions du naso-pharynx, autrement les sources de contamination, en temps d'épidémie, resteraient tant soit peu obscures. Or, cette élimination est vérifiée par l'expérience. En effet, Flexner et Lewis (1) prouvent, en 1910, que le virus poliomyélitique peut être décelé dans la muqueuse nasale des simiens contaminés. De leur côté, Landsteiner, Levaditi et Danulesco (2) placent des tampons d'ouate dans les narines des simiens atteints de paralysie infantile expérimentale, et recherchent le germe dans les sécrétions qui imbibent ces tampons ; ils l'y décèlent dans les filtrats et confirment aussi les constatations antérieures de Flexner (3). On peut, d'ailleurs, transmettre la poliomyélite au singe en introduisant, dans les narines, des tampons ayant séjourné dans les fosses nasales d'autres simiens paralysés [Landsteiner, Levaditi et Danulesco (4)]. En outre, les sécrétions naso-pharyngées des animaux convalescents de paralysie infantile, devenus ainsi porteurs de germes, peuvent être contaminantes (Flexner et Clark, Osgood et Lucas (5)).

Bref, *le virus de la maladie de Heine-Medin s'élimine par les sécrétions de la muqueuse olfactive et du revêtement muqueux du pharynx, sécrétions qui constituent, en temps d'épidémie, la principale source de contagion.*

Un problème se pose : *quelle est la voie suivie par le germe pour franchir le chemin qui sépare la barrière muqueuse naso-*

(1) FLEXNER. *Journ. of the Amer. med. Assoc.*, 54, 1912, p. 1371.

(2) LANDSTEINER, LEVADITI et DANULESCO. *C. R. Soc. de Biol.*, 71, 1911, p. 558.

(3) FLEXNER, Soc. méd. de New-York, séance du 12 octobre 1911. *Presse Médicale*, n° 96, 2 décembre 1911.

(4) LANDSTEINER, LEVADITI et DANULESCO. *C. R. Soc. de Biol.*, 71, 1911, p. 558.

(5) OSGOOD et LUCAS. *Journ. of the Amer. med. Assoc.*, 56, 1911, p. 495.

pharyngée, du système nerveux central ? Dès le début de leurs investigations, Levaditi et Landsteiner (1) ont apporté des preuves en faveur du rôle prépondérant des nerfs et du bulbe olfactif. Voici comment ils s'exprimaient à ce sujet : « Nous avons pensé que le microbe, dans sa marche ascendante, pouvait suivre le *nerf olfactif*, et nous avons recherché si les bulbes olfactifs d'un singe inoculé dans la muqueuse nasale, contenait le virus ». L'expérience ayant fourni un résultat nettement positif (virulence du bulbe olfactif, lequel a conféré la poliomyélite après une incubation de cinq jours), ils ont conclu que le virus peut envahir le système nerveux central en cheminant le long des nerfs et du bulbe olfactif. Ce qui les autorisait à formuler une telle conclusion, c'est que, dans des essais antérieurs, Landsteiner et Levaditi (2), de même que Flexner et Lewis (3), avaient prouvé que le germe infravisible de la maladie de Heine-Medin se disperse dans l'organisme par les voies que lui offrent les nerfs et les connexions nerveuses en général. De plus, Leiner et Wiesner (*loc. cit.*) ont prouvé que la section d'un nerf périphérique, dont le segment distal a été contaminé, entrave la marche centripète du germe. Ces expériences ont été, d'ailleurs, reprises récemment par Fairbrother et Hurst (4), Jungeblut et Spring (5), Hurst (6) et Toomey (7).

La présence du germe poliomyélitique dans le bulbe olfactif, après contamination par voie nasale, ressort également des essais relatés par Flexner et Clarke, et, il y a peu de temps encore, par Faber et Gebhardt (8). Examinant la localisation de ce virus pendant la période d'incubation, chez des singes contaminés par instillation dans les narines, ces auteurs ont conclu que la progression du microbe s'effectue, de la porte d'entrée (muqueuse nasale) vers les centres nerveux, par les nerfs et le bulbe olfactif, puis de l'encéphale vers la moelle épinière, le long des relais neuroniques. La moelle n'est jamais envahie

(1) LEVADITI et LANDSTEINER. *C. R. Soc. de Biol.*, 68, 1910, p. 417.

(2) LANDSTEINER et LEVADITI. *C. R. Soc. de Biol.*, 67, 1909, p. 787.

(3) FLEXNER et LEWIS. *Journ. of Amer. med. Assoc.*, 12, 1909, p. 1276.

(4) FAIRBROTHER et HURST. *Journ. of Path. a. Bacter.*, 33, 1930, p. 57.

(5) JUNGEBLUT et SPRING. *Proc. Soc. of exper. Biol. and Med.*, 27, 1930, p. 1076.

(6) HURST. *Journ. of Pathol. and Bact.*, 35, 1932, p. 45.

(7) TOOMEY. *Proc. of Soc. exper. Biol. and Med.*, 31, 1934, p. 702.

(8) FABER et GEBHART. *Proc. Soc. exper. Biol. and Med.*, 30, 1933, p. 879.

avant le septième jour de l'incubation. Au fur et à mesure que la contamination de l'axe médullaire s'opère, des zones encéphaliques, virulentes au début, se stérilisent peu à peu.

Ceci étant, d'autres expérimentateurs se sont demandés si en barrant, d'une manière ou d'une autre, la route constituée par les connexions nerveuses reliant la muqueuse nasale au névraxe, on n'obtiendrait pas le même effet qu'en sectionnant un nerf périphérique, dont seul le segment périphérique est infecté (expériences de Leiner et Wiesner, v. ci-dessus). Les résultats ont été des plus probants. Ainsi, Brodie et Elvidge (1) pratiquent une section bilatérale et une ablation partielle du bulbe et du tractus olfactif, chez un certain nombre de *Macacus rhesus*, qu'ils contaminent, en même temps que d'autres simiens témoins, en leur instillant dans les narines, à une ou plusieurs reprises, des émulsions névraxiques virulentes. *Alors que les singes non opérés contractent une poliomyélite typique, les sujets chez lesquels on avait sectionné le tractus olfactif restent indemnes.* Les auteurs attirent l'attention sur le fait que la muqueuse nasale est innervée non seulement par le nerf olfactif, mais encore par des filets tributaires du trijumeau et du sympathique. Par ailleurs, il est possible que le virus pénètre dans les amygdales, qu'il inonde lors de l'instillation. Il en résulte que la non-dispersion du germe dans le névraxe, après destruction de la voie olfactive, prouve que *cette voie est la seule qui assure la neuroproboscie centripète*. Ils ajoutent que la facilité avec laquelle le virus traverse la muqueuse nasale pour se disperser dans le névraxe, s'explique par la présence de neurones dans cette muqueuse.

Par ailleurs, Schultz et Gebhardt (2) entreprennent des expériences analogues. Ils détruisent, chez six *Macacus rhesus*, le bulbe olfactif au moyen d'une cautérisation par l'électrocautère. Ces animaux, ainsi que des témoins, sont infectés ultérieurement par instillation nasale. Aucun des sujets opérés ne contracte la poliomyélite, alors que les simiens non opérés se paralysent dans les délais habituels. Or, fait important, les singes dépourvus de bulbe olfactif se révèlent, par la suite,

(1) BRODIE et ELVIDGE. *Science*, 79, 1934, p. 235.

(2) SCHULTZ et GEBHARDT. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 31, 1934, p. 728.

susceptibles de contracter la paralysie infantile après inoculation du virus dans le cerveau.

Si l'on ajoute à ces données expérimentales, les observations histologiques de Demme (1), Pette (2), Kramer et Parker (3), et les conclusions de S. Flexner (4), au sujet du rôle du liquide céphalo-rachidien dans la propagation de virus poliomyélitique (rôle apparemment nul), on est en droit de conclure que *la dispersion du germe introduit dans les fosses nasales s'effectue surtout par la voie des nerfs, du bulbe et du tractus olfactifs* (5). D'autre part, il est probable, sinon certain, que lors de son élimination par les sécrétions naso-pharyngées, le virus suit le même chemin, mais en sens inverse. Quant à savoir si le microbe progresse le long des cylindraxes, ou des espaces lymphatiques périnerveux, aucune expérience ne permet, à l'heure qu'il est, de formuler à ce sujet une opinion bien arrêtée. L'un de nous a examiné en détail le problème du mécanisme pathogénique de la *neuroprobasie* dans sa Monographie : *L'Herpès et le Zona* (6); nous n'y reviendrons pas.

b) *Voie digestive.* — Nous n'insisterons pas, non plus, sur l'état actuel de nos connaissances concernant la pénétrabilité du virus poliomyélitique à travers la muqueuse digestive. Levaditi, Kling, Lépine et Hornus ont exposé, dans une série de communications présentées à l'Académie de Médecine, les résultats de leurs investigations expérimentales; le lecteur voudra bien s'y reporter. Il y verra, surtout s'il consulte la dernière note de Kling, Levaditi et Hornus (7), *que si la pénétrabilité du virus poliomyélitique à travers la muqueuse du tube digestif est certaine, de même que son élimination par les matières fécales* (8) [*singes malades, ou simplement porteurs de germes*], *par contre, cette pénétrabilité est sujette à des variations dont ils nous est actuellement impossible de trouver les raisons.*

(1) DEMME. *Deutsche Zeit. f. Nervenheilkunde*, 116, 1930, p. 156.

(2) PETTE. *Deutsche Zeit. f. Nervenheilkunde*, 116, 1930, p. 163.

(3) KRAMER et PARKER. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 30, 1933, p. 1417.

(4) S. FLEXNER. *Science*, 78, 1933, p. 129.

(5) Nous réalisons actuellement des expériences dans le but de vérifier les données réalisées par les auteurs américains.

(6) LEVADITI. *L'Herpès et le Zona*, Paris, Masson, éditeur, 1926.

(7) KLING, LEVADITI et HORNUS. *Bull. Acad. de Méd.*, 111, 1934, p. 709.

(8) Cf., les recherches confirmatives de Clark, Roberts et Preston. *Journ. of prevent. Med.*, 6, 1932, p. 47.

Quoi qu'il en soit, un fait est hors conteste : *les voies aériennes supérieures se prêtent mieux à la contamination des simiens que la muqueuse du tube digestif* [Cf., également les recherches récentes de Plotz (1)]. Toomey (2) explique cette différence de réceptivité par le péristaltisme de l'intestin grêle, lequel chasse le virus vers le *colon*, avant que le germe puisse traverser les couches épithéliales du tractus iléo-duodéal et atteindre les terminaisons nerveuses du sympathique abdominal. Des expériences ingénieuses paraissent confirmer cette manière de voir.

II. HERPÈS. — a) *Voies aériennes supérieures*. — Le virus herpétique est pathogène pour le lapin et d'autres animaux réceptifs (singe, cobaye, souris), surtout lorsqu'on a soin de l'introduire directement dans le névraxe (encéphale, nerfs périphériques). Son affinité dermatrope se traduit : 1° par les *altérations papulo-vésiculeuses* qu'il engendre au niveau du revêtement cutané, suivies de sa propagation vers la moelle épinière, le long des connexions nerveuses médullo-cutanées ; 2° par la *kératite*, compliquée d'encéphalite, qu'il provoque lorsqu'on l'inocule, par scarification, à la cornée. Comment se comporte-t-il à l'égard des voies aériennes supérieures ?

Levaditi et Harvier (3) ont montré, dès 1920, que si, avec la souche C d'origine humaine (encéphalite léthargique), encore peu adaptée au lapin, la simple instillation nasale restait sans effet, il n'en était pas de même lorsqu'une telle instillation était pratiquée après scarification préalable de la muqueuse. Les lapins contractaient, dans ce cas, une encéphalopathie herpétique typique. De ces expériences, auxquelles s'ajoutaient les essais concernant la réceptivité de la muqueuse conjonctivale, les auteurs (4) concluaient que « tant que ces muqueuses conservent leur intégrité anatomique, elles s'opposent à la diffusion du germe ; mais, dès qu'elles sont lésées, soit par traumatisme, soit par un processus inflammatoire quelconque (en l'occurrence l'action de l'huile de croton), elles cessent de constituer une barrière infranchissable ».

(1) PLOTZ. *Bull. Acad. de Méd.*, 141, 1934, p. 721.

(2) TOOMEY. *Proc. Soc. exper. Biol. and Med.*, 31, 1934, p. 680

(3) LEVADITI et HARVIER. *C. R. Soc. Biol.*, 83, 1920, p. 674.

(4) LEVADITI et HARVIER, *Ces Annales*, 36, 1922, p. 1.

Par la suite, se servant de souches herpétiques plus virulentes et mieux acclimatées au lapin, Levaditi et ses collaborateurs ont constaté que de tels traumatismes ou lésions inflammatoires n'étaient nullement indispensables. « Actuellement, dit Levaditi (1), notre souche herpéto-encéphalitique étant, par suite de passages répétés sur le lapin, devenue éminemment neurotrope, nous réussissons à conférer plus fréquemment l'encéphalite en déposant le germe dans les narines ». Ces constatations ont été confirmées par Da Fano (2), Flexner et Amoss (3), Remlinger et Bailly (4), et complétées par Mc Kinley (5), lequel a expérimenté sur le cobaye. D'après ce chercheur, cette espèce animale est susceptible de contracter l'encéphalite herpétique par instillations de virus dans les fosses nasales (passages névrauxiques positifs). Le succès dépend de la virulence de la souche utilisée et de ses affinités neurotropes (6). Si l'on ajoute le fait que, souvent, la kérato-conjonctivite herpétique, suivie d'encéphalite, s'accompagne de rhinite, on est autorisé à conclure que *la muqueuse naso-pharyngée constitue, chez le lapin et le cobaye, une porte d'entrée favorable à la pénétration du germe dans l'organisme.*

Malheureusement, aucun fait expérimental précis n'est venu enrichir nos connaissances au sujet du *mécanisme qui préside à la dispersion du virus herpétique mis au contact de la muqueuse naso-pharyngée*. En cela, nous sommes en retard sur les données concernant la poliomyélite, d'où l'utilité des essais faisant l'objet du présent Mémoire. Tout ce que nous savons, c'est que la muqueuse nasale des lapins qui succombent à une encéphalite herpétique conférée par inoculation transcranienne, peut contenir le virus [filtrats pathogènes, Levaditi et Harvier (7)]. Il a été établi, d'autre part, que l'introduction du germe dans la trachée, peut conférer la maladie, quoique inconstamment [Levaditi et Harvier (8)].

(1) LEVADITI. *L'Herpès et le Zona*, Paris, Masson, éditeur, 1926, p. 129.

(2) DA FANO. *Journ. of Pathol. and Bact.*, 26, 1923, p. 85 (expériences de Perdrau).

(3) FEXNER et AMOSS. *Journ. exp. Med.*, 41, 1925, p. 357.

(4) REMLINGER et BAILLY, *Ces Annales*, 40, 1926, p. 253.

(5) MC KINLEY. *Proc. Soc. exper. Biol. and Med.*, 26, 1929, p. 699.

(6) L'auteur a utilisé la souche isolée par M. Lefèvre de Arric (souche Bruxelles), la même qui nous a servi dans nos essais actuels.

(7) LEVADITI et HARVIER. *C. R. Soc. Biol.*, 83, 1920, p. 1140.

(8) LEVADITI et HARVIER, *Ces Annales*, 36, 1922, p. 24.

b) *Voie digestive.* — Les tentatives de transmission de l'infection herpétique au lapin par voie digestive, n'ont abouti, entre les mains de Levaditi et Harvier (*loc. cit.*) et de Teissier, Gastinel et Reilly (1), qu'à des résultats négatifs. Ultérieurement, Remlinger et Bailly (2) ont réussi à conférer l'encéphalopathie herpétique en introduisant le virus de l'herpès par la sonde stomacale, surtout si l'on a soin de préparer les animaux par ingestions préalables de bile. Les expériences de Mc Kinley (3), entreprises sur le cobaye, ont abouti à des résultats analogues. En effet, l'auteur administre aux animaux, par la même voie, de 4 à 5 cent. cubes d'émulsion névrauxique virulente; il constate que certains sujets contractent une encéphalite (incubation de huit à dix jours), confirmée par des passages sur le lapin. Il en résulte que *la névrauxite herpétique peut être conférée au lapin et au cobaye par introduction du virus dans le tube digestif.*

Recherches personnelles.

Nos investigations se rapportent :

1° *Au mécanisme de la dispersion du virus herpétique dans l'organisme, après pénétration à travers la muqueuse naso-pharyngée;*

2° *A l'étude de la réceptivité du lapin à l'égard du même virus, administré par voie digestive.*

I. — MÉCANISME DE LA DISPERSION

DU VIRUS HERPÉTIQUE DANS L'ORGANISME,

APRÈS PÉNÉTRATION A TRAVERS LA MUQUEUSE NASO-PHARYNGÉE.

Le lapin est parfaitement réceptif à l'égard de l'infection herpétique par voie nasale. Ce fait, établi par les recherches antérieures de Levaditi et Harvier, Flexner et Amoss, Da Fano, Remlinger et Bailly (v. ci-dessus), est pleinement confirmé par nos expériences actuelles.

(1) TEISSIER, GASTINEL et REILLY, *C. R. Soc. Biol.*, 91, 1924, p. 171.

(2) REMLINGER et BAILLY, *Ces Annales*, 40, 1926, p. 253.

(3) MC KINLEY, *Proc. Soc. exper. Biol. and Med.*, 26, 1928, p. 21.

TECHNIQUE. — Une émulsion névraxique, préparée à l'aide d'un fragment d'encéphale provenant d'un lapin mort d'encéphalite herpétique (contrôlée histologiquement), est instillée dans les deux fosses nasales, à la dose d'environ 1 cent. cube. L'instillation est répétée le lendemain et le surlendemain. En cas de décès, on contrôle la stérilité microbienne de l'encéphale, puis on effectue un passage névraxique sur un lapin neuf (inoculation transcrânienne). Le résultat de l'expérience est vérifié par l'examen microscopique des centres nerveux.

Le contrôle de la virulence de la muqueuse nasale et du poumon est réalisée par des inoculations d'émulsions de ces organes, soit à la cornée (après scarification), soit sur le revêtement cutané, soit, enfin, dans le cerveau (après filtration). Par ailleurs, des tampons d'ouate sont introduits dans les narines, au moment où l'animal commence à présenter des symptômes morbides, et laissés en place jusqu'à sa mort. La teneur en virus herpétique de ces tampons est appréciée par des inoculations cornéennes, effectuées sur d'autres animaux neufs.

Enfin, le rôle des voies olfactives dans la propagation centripète du virus, est étudié grâce à l'utilisation d'une technique opératoire, dont voici les détails : on pratique une trépanation dans la région frontale, de manière à ce que l'ouverture corresponde à l'emplacement exact du bulbe olfactif. A l'aide d'une tige chauffée à blanc, on détruit ce bulbe, puis on remplit la cavité avec de la cire golaz. Suture de la plaie. Après un intervalle de huit jours, on infecte l'animal par instillation nasale, on enregistre les résultats de l'inoculation, puis on vérifie anatomiquement la destruction du bulbe olfactif.

Voici une expérience type de contamination par voie nasopharyngée :

EXPÉRIENCE. — Emulsion névraxique préparée avec le cerveau du lapin 459 X, inoculé avec la souche herpétique *Bruxelles*, isolée par M. Lefèvre de Arric (lésions caractéristiques intenses). Trois instillations nasales quotidiennes au lapin 464 X. Le sixième jour, hypersalivation, opisthotonos, mouvements désordonnés des membres antérieurs. Mort le septième jour. Culture du névraxe stérile. *Examen histologique* du cerveau : méningite monocytaire des septums, périvascularite lymphocytaire, altérations typiques des neurones (caryo-oxyphilie). Des passages sont effectués aux lapins 474 X (voie cérébrale) et 473 X (voie cornéenne). Le premier de ces animaux succombe le troisième jour (lésions positives intenses), le lapin 473 X fait de la kératite herpétique et meurt le dixième jour (altérations caractéristiques).

Cette expérience montre que *le virus herpétique B, administré au lapin par instillation nasale, lui confère une encéphalite mortelle en sept jours.*

Nous résumons, dans le *tableau I*, l'ensemble de nos essais, semblables au précédent :

TABLEAU I. — Réceptivité du lapin
à l'égard de l'instillation nasale du virus herpétique.

NUMÉRO du lapin	MORT LE :	ALTÉRATION ¹ névrauxiques	PASSAGES	RÉSULTAT des passages
463 X	8 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (4 ^e jour).
613 X	8 ^e jour.	Méningées.	Cérébral.	Positif (4 ^e jour).
614 X	7 ^e jour.	Méningées.	Cornéen.	Positif (15 ^e jour).
646 X	8 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (4 ^e jour).
647 X	11 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (4 ^e jour).
700 X	8 ^e jour.	Typiques.		
701 X	5 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (3 ^e jour).
368 A	8 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (4 ^e jour).
369 A	7 ^e jour.	Méningées.		
370 A	9 ^e jour.	Typiques.		
435 A	7 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (4 ^e jour).
456 A	13 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (3 ^e jour).
457 A	8 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (5 ^e jour).
458 A	6 ^e jour.	<i>Absence de lésions.</i>	Cérébral.	Positif (3 ^e jour).
439 A	6 ^e jour.	Méningées.	Cérébral.	Positif (3 ^e jour).
460 A	8 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (3 ^e jour).
461 A	7 ^e jour.	Typiques.	Cérébral.	Positif (3 ^e jour).

Le tableau I montre que 17 tentatives de transmission de l'infection herpétique au lapin par instillation de virus dans les fosses nasales, ont fourni 17 résultats positifs (100 p. 100). Les animaux ont succombé du sixième au treizième jour (le plus souvent en sept à huit jours) après la première administration intranasale, ayant présenté des signes typiques d'encéphalite : opisthotonos, mouvements désordonnés, paralysies. Leur cerveau était, dans la grande majorité des cas, le siège d'altérations méningées, vasculaires et neuroniques typiques. Ça et là, cependant, certains sujets n'offraient que des lésions discrètes, intéressant principalement la pie-mère; dans un cas (lapin 458 A), l'encéphale était virulent, quoique exempt de modifications histologiques apparentes (1). Enfin, chez tous les lapins contaminés par voie nasale, le virus a pu être mis en évidence dans le névraxe, à l'aide de passages cérébraux effectués sur des lapins neufs. Ceux-ci ont succombé du troisième au quatrième jour (exceptionnellement le cinquième jour), la durée de leur encéphalopathie étant plus courte que celle de sujets contaminés par voie nasale.

La souche B n'est pas la seule à engendrer l'encéphalite her-

(1) Nous retrouvons cette particularité au cours de nos expériences.

pétique, lorsqu'elle est instillée dans le naso-pharynx. Tous les échantillons en notre possession, se sont comportés de même; exemple les essais suivants :

a) *Souche E.* — Lapin 785 X. Mort le quatorzième jour. Altérations intenses caractéristiques. Passage cérébral au lapin 979 X; résultat positif le quatrième jour.

b) *Souche N.* — Lapin 788 X. Mort le huitième jour. Lésions méningées discrètes. Passage cérébral au lapin 952 X; résultat positif après six jours.

c) *Souche J. V.* — Lapin 904 X. Mort le neuvième jour. Altérations typiques. Passage au lapin 968 X; résultat positif le septième jour.

Quelle est, de ce point de vue, la réceptivité du *cobaye*, de la *souris* et du *singe*? En ce qui concerne l'espèce *cobaye*, nous avons été moins heureux que Mc Kinley (*loc. cit.*); en effet, aucun de nos animaux, contaminés par voie nasale, n'a réagi. Il en fut de même d'un *singe* (*Macacus cynomolgus* n° 803), ayant reçu deux séries de trois instillations dans les narines (1). Quant à la *souris blanche*, une de nos expériences a prouvé qu'il est possible de lui conférer l'encéphalite herpétique par voie nasale :

EXPÉRIENCE. — Les souris n° 7, 8 et 9 reçoivent trois instillations nasales quotidiennes. La *souris* n° 7 est sacrifiée le vingt-cinquième jour. Absence d'altérations herpétiques et passage négatif. La *souris* n° 8 offre de l'hyper-salivation et succombe le huitième jour. Pas de lésions caractéristiques, mais passage positif au lapin 480 X (mort le quatrième jour, modifications histologiques caractéristiques). La *souris* n° 9 survit.

Ainsi, parmi les quatre espèces animales examinées, lapin, *cobaye*, *singe* (*MACACUS CYNOMOLGUS*) et *souris*, le lapin s'est révélé le plus réceptif du point de vue de la pénétration du virus herpétique à travers la muqueuse naso-pharyngée et de sa dispersion vers le système nerveux central.

La concentration de l'émulsion névrauxique en unités virulentes, joue-t-elle un rôle appréciable, du point de vue de la transmissibilité de l'infection par les voies aériennes supérieures?

(1) On sait que certaines espèces de singes (*Cercopithecus callithrix*, *Cebus olivaceus*) sont susceptibles de contracter l'encéphalite herpétique après inoculation du virus dans l'encéphale [Cf. les expériences de LEVADITI, LÉPINE et SCHOEN, *Acta med. Scandinavica*, 71, 1929, p. 192; de ZINSSER, *Journ. exp. Med.*, 49, 1929, p. 661; de Mc KINLEY et DOUGLASS, *Journ. of inf. Diseases*, 47, 1930, p. 511].

Des dilutions d'émulsion cérébrale, provenant du lapin 756 X, ont été préparées à la concentration de 1/10 et 1/100. Des instillations avec l'émulsion concentrée et ces deux dilutions ont été effectuées, à trois reprises différentes, aux lapins 781 X (1/100), 782 X (1/10) et 783 X (concentrée). Les trois sujets sont morts, respectivement, les septième, septième et sixième jours (examen histologique et passages positifs).

Il en résulte que *dans les limites des concentrations choisies (1/10 et 1/100), la teneur de l'émulsion herpétique cérébrale en germes ne semble influencer ni la durée, ni l'évolution de l'encéphalopathie conférée par voie naso-pharyngée.*

*
* *

Etant donné l'excellent matériel d'expérience que nous fournit l'infection nasale herpétique du lapin, nous avons entrepris l'étude du mécanisme présidant à la pénétration du germe par les muqueuses naso-pharyngées et à sa dispersion vers le névraxe. Pour ce faire, *nous avons examiné, d'une part, la porte d'entrée, en l'occurrence la muqueuse nasale et ses sécrétions; d'autre part, le chemin que suit le germe pour atteindre les centres nerveux encéphaliques.*

Première question : *La muqueuse nasale des sujets infectés par introduction du virus dans les cavités du nez, est-elle virulente? Montre-t-elle des altérations en rapport avec la présence du virus dans les éléments anatomiques qui la constituent? Le germe peut-il être décelé dans les sécrétions qu'elle élabore? Or, voici ce que répond l'expérience à ce sujet :*

1° VIRULENCE DE LA MUQUEUSE NASALE. — Le dépistage du virus de la muqueuse nasale peut se faire, soit par inoculations transcraniennes d'extraits préalablement filtrés, soit par des scarifications cornéennes, au moyen d'émulsions non épurées par la filtration. Afin d'éviter l'appauvrissement en germes résultant de cette filtration, nous nous sommes adressés à la seconde de ces techniques. La présence d'unités virulentes dans la muqueuse nasale, après inoculation à la cornée, se révèle par l'éclosion d'une kératite spécifique, suivie d'encéphalopathie herpétique. La kératite seule, tout en étant un indice d'infectiosité, peut, cependant, induire en erreur, du fait

de la présence, à la surface du revêtement muqueux, de microbes d'association jouissant de propriétés kératogènes. Le seul critère indiscutable est donc l'encéphalite consécutive. Ceci étant, voici les résultats de nos expériences :

EXPÉRIENCE 1. — Emulsion névraxique du lapin 459X; trois instillations nasales sont effectuées au lapin 463X. L'animal succombe le sixième jour. Son encéphale est virulent et lésé (passage au lapin 481X, mort d'encéphalite le quatrième jour). La muqueuse nasale du lapin infecté est administrée, par voie cornéenne, au lapin 482X. Celui-ci survit; sacrifié le quarantième jour, il se révèle exempt d'encéphalite.

Résultat : L'extrait de muqueuse nasale n'est ni kératogène, ni encéphalitogène.

EXPÉRIENCE 2. — Virus provenant du lapin 604X; trois instillations nasales au lapin 613X. L'animal succombe le huitième jour (encéphale virulent). La muqueuse nasale, disséquée, est administrée, par voie cornéenne, aux lapins 648X et 649X. L'un de ces animaux est mort le dix-neuvième jour (absence d'altérations cérébrales et de virulence), l'autre survit. Son encéphale, examiné le vingt-sixième jour, se révèle normal.

Résultat : L'extrait de muqueuse nasale n'est ni keratogène, ni encéphalitogène.

EXPÉRIENCE 3. — Émulsion névraxique du lapin 444A; trois instillations nasales effectuées au lapin 457A. L'animal succombe le huitième jour. Son cerveau, nettement altéré, est inoculé, avec succès, au lapin 485A (mort le cinquième jour, lésions positives). La muqueuse nasale du lapin infecté est disséquée et administrée, par voie cornéenne, aux lapins 486A et 487A. Les deux animaux survivent. Sacrifiés le vingt-sixième jour, ils se montrent exempts d'altérations névraxiques, quoique l'un et l'autre aient présenté des signes nets de kératite.

Résultat : L'extrait de muqueuse nasale est kératogène, mais non encéphalitogène.

EXPÉRIENCE 4. — Émulsion cérébrale virulente provenant du lapin 444A. Trois instillations nasales effectuées au lapin 458A. Celui-ci succombe le sixième jour. *Absence d'altérations cérébrales visibles, mais virulence positive* (passage au lapin 467A, mort d'encéphalite le troisième jour). La muqueuse nasale du lapin infecté est administrée, par voie cornéenne, aux lapins 468A et 469A. Ces animaux réagissent par une kératite intense et succombent, l'un le neuvième jour, l'autre le treizième jour. Leurs encéphales, plus ou moins altérés, renferment du virus (passages positifs sur les lapins 481A et 698A, morts le troisième jour; lésions caractéristiques intenses) [voy. schéma 1].

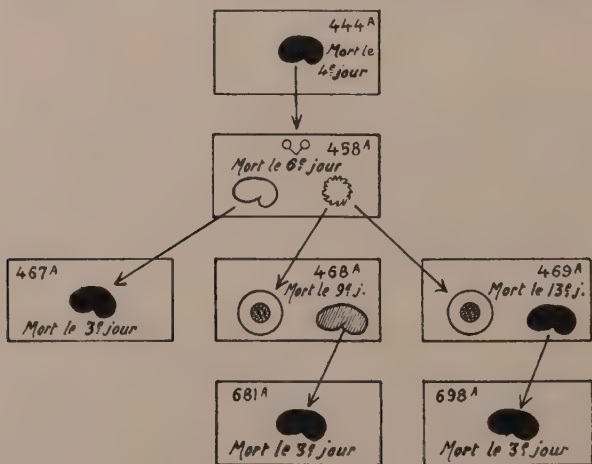
Résultat : L'extrait de muqueuse nasale est, à la fois, kératogène et encéphalitogène.

EXPÉRIENCE 5. — Virus provenant du lapin 444A. Trois instillations nasales effectuées au lapin 459A. Celui-ci succombe le sixième jour. Son cerveau, faiblement lésé, contient le germe de l'herpès (inoculation positive au lapin 470A, mort d'encéphalite le troisième jour). La muqueuse nasale, disséquée, est administrée, par scarification cornéenne, au lapin 472A. Celui-ci

réagit par une kératite intense et succombe d'encéphalopathie herpétique le seizième jour (passage positif au lapin 721 A, mort le troisième jour).

Résultat : L'extrait de muqueuse nasale est, à la fois, kératogène et encéphalitogène.

EXPÉRIENCE 6. — Virus provenant des lapins 688 et 689 X. Trois instillations nasales effectuées au lapin 703 X. Celui-ci succombe le cinquième jour. Légèrement altéré, son cerveau est virulent (passage positif au lapin 108 A). La muqueuse nasale, disséquée, est administrée, par voie cornéenne, aux lapins 80 A et 81 A. Tous deux réagissent par une kératite intense. Le pre-



SCHEMA 1.

mier succombe le quatorzième jour (altérations herpétiques manifestes), le second meurt le huitième jour (mêmes altérations).

Résultat : L'extrait de muqueuse nasale s'est révélé à la fois kératogène et encéphalitogène.

EXPÉRIENCE 7. — Trois instillations nasales effectuées au lapin 705 X. Celui-ci succombe le sixième jour (lésions intenses caractéristiques de l'encéphale). La muqueuse nasale, disséquée, est administrée aux lapins 82 A et 83 A. Ceux-ci réagissent par une intense kératite et succombent, respectivement, le septième et le neuvième jour. Leurs encéphales, spécifiquement altérés, se montrent virulents (inoculation positive aux lapins 138 A et 150 A, morts le troisième et le deuxième jour) [voy. schéma 2].

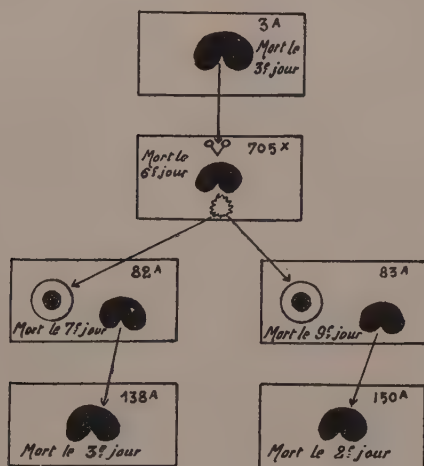
Résultat : L'extrait de muqueuse nasale s'est révélé à la fois kératogène et encéphalitogène.

L'ensemble de ces essais prouve que le virus herpétique peut être décelé dans la muqueuse nasale des lapins contaminés par

voie naso-pharyngée, sa présence se traduisant, soit par la faculté d'engendrer une kératite inflammatoire (cinq fois sur sept essais), soit par des propriétés à la fois kératogènes et encéphalitogènes (quatre fois sur sept).

2° PRÉSENCE DU VIRUS DE L'HERPÈS DANS LES SÉCRÉTIONS NASALES.

— Le germe herpétique s'élimine par les sécrétions du nez. En voici la preuve : des tampons d'ouate sont placés dans les



SCHEMA 2.

narines de lapins infectés par voie nasale, quelques jours avant que l'encéphalopathie se déclare chez eux. Ils sont retirés au moment de la mort de l'animal, et servent à infecter d'autres lapins par voie cornéenne ou intranasale.

EXPÉRIENCE 1. — Émulsion cérébrale virulente provenant du lapin 3A. Trois instillations nasales effectuées au lapin 705X. Celui-ci succombe le cinquième jour et présente de légères altérations encéphaliques. Deux jours avant sa mort, des tampons sont placés dans les narines. L'un de ces tampons, retiré au moment du décès, est introduit dans les fosses nasales du lapin 86A. L'animal survit; sacrifié le soixante quatrième jour, il se révèle exempt de lésions névrauxiques. Le second tampon sert à inoculer, par voie cornéenne, le lapin 87A. Celui-ci réagit par une kératite inflammatoire et meurt, sans modifications histologiques de l'encéphale, le huitième jour. Névraie virulent (passage positif au lapin 144A, mort d'encéphalite le quatrième jour).

Résultat : Présence du virus herpétique dans les sécrétions nasales.

EXPÉRIENCE 2. — Même virus. Trois instillations nasales effectuées au lapin 705 X. Celui-ci succombe le sixième jour (lésions spécifiques et virulence du cerveau). *Un jour avant le décès, on introduit des tampons dans les narines.* Ces tampons se révèlent inefficients par introduction dans les fosses nasales du lapin 85 A, mais provoquent une kératite inflammatoire après inoculation cornéenne au lapin 84 A. En effet, ce lapin succombe le treizième jour; son encéphale, spécifiquement altéré, se montre virulent pour le lapin 165 A (mort d'encéphalite herpétique le cinquième jour).

Résultat : Présence du virus herpétique dans les sécrétions nasales.

EXPÉRIENCE 3. — Émulsion virulente provenant du lapin 444 A. Trois instillations nasales effectuées au lapin 461 A. Celui-ci succombe le septième jour

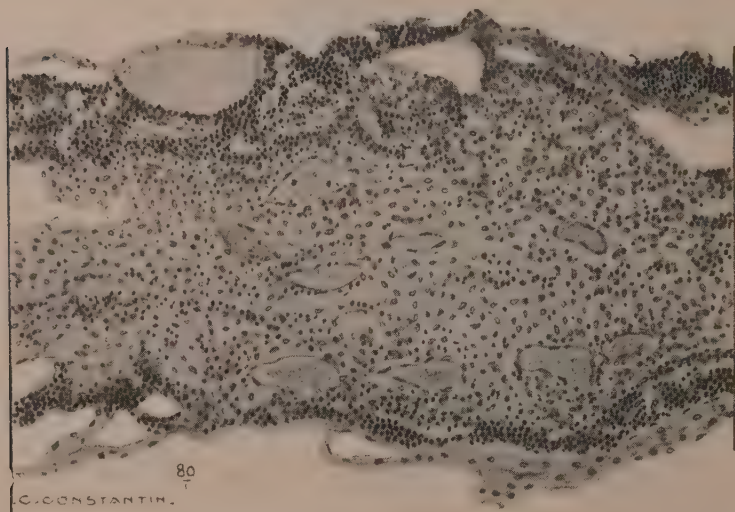


FIG. 1. — Lapin 669 X. Contamination par voie intranasale. Altérations inflammatoires et dégénératives de la muqueuse du nez. Hémalun. Gross. : 80/1.

(encéphale altéré et virulent, passage positif au lapin 476 A, mort le troisième jour). Vingt-quatre heures avant son décès, on introduit des tampons dans chaque narine. Ces tampons servent à infecter, par voie cornéenne, les lapins 473 A et 474 A. Ceux-ci réagissent par une kératite inflammatoire et succombent le septième jour. Leurs encéphales se montrent lésés et virulents (passages aux lapins 622 A et 623 A, morts d'encéphalite le troisième jour). La muqueuse nasale de l'animal infecté est disséquée, puis administrée, par voie cornéenne, aux lapins 477 A et 478 A. L'inoculation est suivie de kératite et d'encéphalite (décès le septième et le neuvième jour, passages positifs aux lapins 686 A et 622 A, morts tous deux d'encéphalite herpétique le troisième jour).

Résultat : Présence du virus herpétique dans les sécrétions nasales d'un animal dont la muqueuse du nez s'est révélée virulente.

Quoique de tels résultats positifs soient tant soit peu inconstants, en ce sens que, chez d'autres animaux, les sécrétions nasales absorbées par les tampons n'ont pas conféré l'encéphalite aux lapins-tests, alors que la muqueuse nasale était virulente, nous en concluons que *le virus de l'herpès s'élimine*

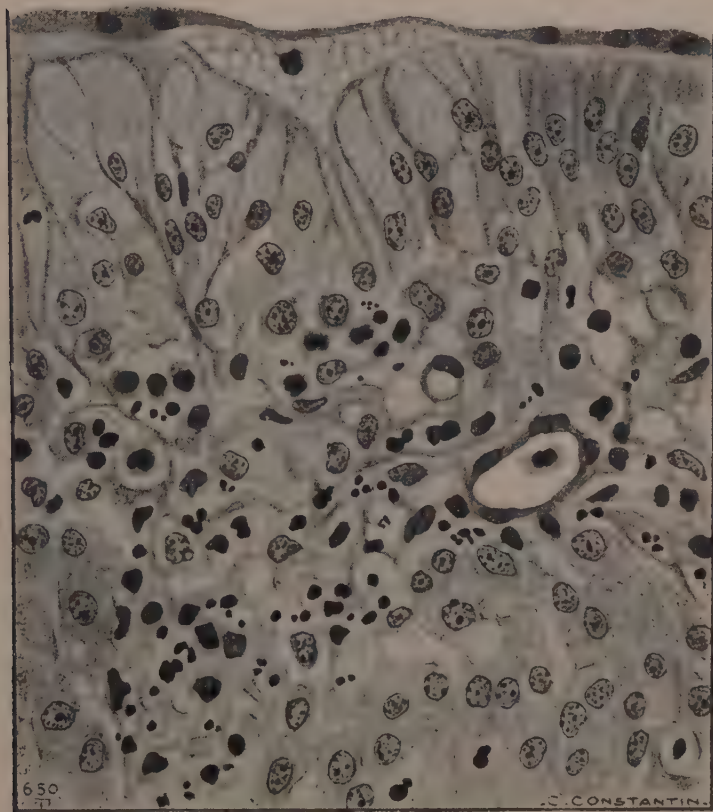


FIG. 2. — *Lapin 665 X*. Contamination par voie intranasale. Altérations inflammatoires et dégénératives de la muqueuse nasale. Hémalum. Gross. : 650/1.

parfois par le mucus nasal chez les lapins contaminés par voie naso-pharyngée.

3° ALTÉRATIONS MICROSCOPIQUES DE LA MUQUEUSE DU NEZ. — Nous avons eu soin d'examiner microscopiquement la muqueuse nasale des lapins infectés par voie naso-pharyngée, prélevée

après la mort de l'animal. Un tel examen nous a permis d'y révéler des altérations dont l'intensité a varié d'un cas à l'autre. Elles consistaient en une desquamation de l'épithélium de recouvrement au niveau des cornets, de la cloison et de la paroi externe des fosses nasales, accompagnée d'hémorragies et d'exsudation fibrino-leucocytaire. Des foyers riches en polynucléaires (en partie caryolysés) et en lymphocytes étaient décelables dans la sous-muqueuse, foyers à disposition nettement périvasculaire (Cf. fig. 1 et 2). De telles modifications histologiques sont fréquentes; toutefois, elles ont paru exister, alors que ni la muqueuse, ni ses sécrétions n'étaient virulentes.

*
* *

Il ressort de ces constatations expérimentales et histologiques, que *le virus herpétique, introduit dans les fosses nasales du lapin, se localise dans la muqueuse nasale, s'élimine par les sécrétions de cette muqueuse et provoque des altérations microscopiques intéressant soit l'épithélium de recouvrement, soit la sous-muqueuse*. L'ensemble de ces phénomènes nous engage à considérer le processus comme l'expression d'une *infection locale*, véritable *chancre d'inoculation*, offrant plus d'une analogie avec la kéralite herpétique, et cela, d'autant plus, que dans les deux cas, la réaction *in situ* est suivie d'une dispersion du virus vers les centres nerveux. Reste à préciser le chemin que parcourt le germe entre le chancre d'inoculation et le névraxe. C'est ce que nous examinerons dans le paragraphe suivant.

*
* *

Deuxième question : *Quelle est la voie suivie par le virus herpétique entre la porte d'entrée, représentée par la muqueuse naso-pharyngée, et le système nerveux central?* Entre les voies sanguine, lymphatique, celle des espaces sous-arachnoïdiens, et celle des connexions nerveuses de cette muqueuse, nous avons choisi, de préférence, en tant qu'objet d'études, la voie des nerfs. Tout ce que nous savons des affinités spécifiques des ultravirus neurotropes, dont le germe de l'herpès est un des représentants, nous incline à adopter ce choix. Considérant

l'innervation de la muqueuse nasale, laquelle est tributaire du nerf olfactif et des ramifications du trijumeau et du sympathique cervical, nous nous sommes attachés surtout à l'étude de l'appareil olfactif. Envisageons, tour à tour, les altérations microscopiques de cet appareil, sa virulence et les effets de sa suppression opératoire.

a) ALTÉRATIONS. — *Le bulbe olfactif* est le siège de lésions inflammatoires et dégénératives chez les animaux contaminés par voie nasale. On y décèle des signes de méningite monocyttaire, de la périvascularite lymphocytaire, et, çà et là, une dégénérescence oxyphile des noyaux neuroniques.

b) VIRULENCE. — De telles altérations paraissent liées à la virulence du bulbe olfactif. Ainsi, chez le lapin 613X, ayant reçu trois instillations nasales et mort le huitième jour (encéphale spécifiquement lésé et virulent, voy. page 403), on prélève le bulbe olfactif, que l'on inocule, par voie transcranienne, aux lapins 660X et 661X. Ceux-ci montrent des signes d'encéphalite et succombent le cinquième jour. Leur névraxe offre des modifications histologiques caractéristiques.

c) SUPPRESSION OPÉRATOIRE DU BULBE OLFACTIF. — A l'exemple de Brodie et Elvidge et de Schultz et Gebhardt (*loc. cit.*, expériences sur la poliomyélite du singe), nous avons étudié les effets de la suppression opératoire du bulbe olfactif sur l'issue de la contamination herpétique nasale, chez le lapin. Nous avons exposé ci-dessus (v. page 399) la technique utilisée. Voici les protocoles de nos essais :

EXPÉRIENCE 1. — Le lapin 662A est opéré le 30 mars 1934. Dix jours après, on lui instille dans les deux narines une émulsion névraxique virulente provenant du lapin 496A. L'animal succombe le huitième jour. L'encéphale, très légèrement altéré, est inoculé au lapin 727A. Celui-ci meurt le troisième jour d'encéphalite herpétique, contrôlée histologiquement. Non-virulence de la muqueuse nasale du lapin opéré.

Résultat : la suppression du bulbe olfactif n'a pas fait obstacle à la dispersion, par voie nerveuse, du germe herpétique introduit dans les narines (schéma 3).

EXPÉRIENCE 2. — Même dispositif expérimental, même virus. Le lapin opéré (n° 663A) succombe le cinquième jour après l'instillation nasale. Son cerveau (très légèrement altéré) est inoculé, par voie transcranienne, au lapin 709A,

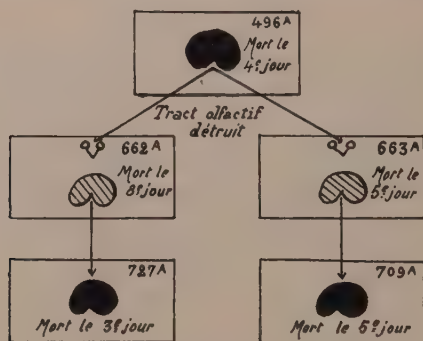
lequel meurt d'encéphalite herpétique le cinquième jour. Non-virulence de la muqueuse nasale du lapin opéré.

Résultat : la suppression du bulbe olfactif n'a pas entravé la propagation, par voie nerveuse, du virus herpétique introduit dans le nez (schéma 3).

EXPÉRIENCE 3. — Même dispositif expérimental, même virus. Le lapin opéré n° 666A, succombe six jours après l'instillation nasale. Son cerveau (très légèrement altéré) sert à inoculer le lapin 715A, lequel meurt le sixième jour d'encéphalite herpétique. Non-virulence de la muqueuse nasale du lapin 666A.

Résultat : la suppression du bulbe olfactif n'a pas fait obstacle à la progression du virus vers le névraxe, chez un animal contaminé ultérieurement par voie nasale.

EXPÉRIENCE 4. — Même dispositif expérimental, même virus. Le lapin opéré n° 667A est contaminé, par voie nasale, dix jours après la destruction du



SCHEMA 3.

bulbe olfactif. Il succombe le quinzième jour. Son cerveau, manifestement lésé (altération du type encéphalitique chronique), sert à inoculer le lapin 772A. Celui-ci succombe le quatrième jour d'encéphalite, vérifiée histologiquement. Non-virulence de la muqueuse nasale du lapin opéré.

Résultat : identique au précédent.

EXPÉRIENCE 5. — Même virus, même dispositif expérimental. Le lapin 664A est opéré, puis contaminé par voie nasale, dix jours après l'intervention. Aucun effet. Deuxième infection nasale, trente-quatre jours après la première. L'animal succombe trois jours après la troisième instillation de cette dernière série. Examen microscopique : légère méningite monocytaire, aucune altération herpétique des neurones. *Passage négatif.*

Résultat : la suppression opératoire du bulbe olfactif semble avoir empêché la propagation, vers les centres nerveux, du virus herpétique administré par voie nasale.

EXPÉRIENCE 6. — Même virus, même dispositif expérimental. Le lapin 665A, opéré, puis infecté par voie nasale dix jours après la suppression du bulbe

olfactif, est mort le septième jour. Son cerveau, exempt de lésions, s'est révélé non virulent.

Ajoutons que deux animaux témoins, non opérés, n° 669 A et 670 A, ont contracté l'encéphalite herpétique et sont morts, respectivement, le septième et le sixième jour.

Ainsi, dans six expériences où le bulbe olfactif a été supprimé chirurgicalement, deux lapins seulement ont paru rester à l'abri de la contamination nasale.

*
* *

Avant de proposer une interprétation plausible des données expérimentales résumées ci-dessus, il nous semble utile de rappeler brièvement nos connaissances sur les connexions nerveuses de la muqueuse du nez. Outre l'appareil sensoriel, représenté par les filets, le bulbe et le tractus olfactifs (innervation sensorielle), il y a lieu d'envisager l'*innervation sensitive*. Celle-ci est tributaire du trijumeau et assurée par le nerf ethmoïdal en avant, par le nerf sphéno-palatin en arrière [Laurens (1)]. L'innervation vaso-motrice et sécrétoire est sous la dépendance du sympathique (filets nerveux émanant du sympathique carotidien). A cela s'ajoute le ganglion sphéno-palatin attaché au nerf maxillaire supérieur.

Il en résulte que les échecs enregistrés dans nos essais peuvent s'expliquer, d'abord, par une destruction incomplète de l'appareil olfactif, la persistance de quelques filets centripètes et de rares neurones, pouvant, à la rigueur, assurer la progression du virus vers le névraxe. D'autre part, nous venons de voir que les connexions nerveuses de la muqueuse nasale sont multiples, et que des ramifications tributaires du trijumeau et du sympathique en assurent également l'innervation. Le germe n'a donc que l'embarras du choix entre les multiples voies centripètes qui s'offrent à lui; aussi, la suppression, même totale, de l'une d'elles, n'entraîne-t-elle pas forcément le barrage de tous les chemins susceptibles de le conduire vers l'encéphale ou le bulbe. De là nos résultats négatifs. Ce qui

(1) LAURENS. *Précis d'oto-rhino-laryngologie*, Paris, Masson, édit., 1931, p. 483. Cf. également les études de BROOKOVER (*J. Comp. Neurol.*, 28, 1917, p. 2) et de HUBER et GUILD (*Anat. Rec.* 7 1913, p. 253), cités d'après Toomey (*loc. cit.*).

est plus étonnant, c'est de constater, avec Brodie et Elvidge, et Schultz et Gebhardt (*loc. cit.*), qu'il en est autrement dans la poliomyélite expérimentale du singe.

*
* *

Lorsqu'on instille des émulsions névraxiques virulentes dans les fosses nasales du lapin, une partie du liquide s'écoule dans la cavité pharyngée. Le virus pourrait être aspiré ainsi dans la trachée et pénétrer dans le poumon. *Il y a donc lieu de rechercher si l'infection herpétique consécutive à la contamination par voie nasale, n'est pas, en réalité, d'origine pulmonaire.* Nous avons vu que, d'après les expériences de Levaditi, Harvier et Nicolau (*loc. cit.*), l'administration du virus herpétique par voie trachéale (1) peut conférer au lapin l'encéphalite herpétique. Nos expériences actuelles confirment cette possibilité. En voici un exemple :

EXPÉRIENCE. — Virus provenant du lapin 787X. Inoculation intra-trachéale effectuée au lapin 907X. Celui-ci succombe le septième jour. Son cerveau confère l'encéphalopathie herpétique au lapin 967X (mort le troisième jour).

De tels résultats positifs ont été enregistrés deux fois sur quatre essais, d'où il résulte que la *voie trachéo-pulmonaire se prête, quoique inconstamment, à la pénétration du virus herpétique dans l'organisme.*

Or, de telles constatations plaideraient *a priori* en faveur de l'origine pulmonaire de l'infection qui succède à la contamination nasale du lapin par le germe de l'herpès. Toutefois, nos recherches concernant la *virulence du poumon* leur enlève toute valeur démonstrative. En effet, dans plusieurs expériences, où les poumons des animaux infectés par voie nasale ont été examinés du point de vue de leur activité pathogène (inoculations cornéennes, cutanées et nasales), la présence du germe n'a été constatée qu'une seule fois (filtrat). La virulence pulmonaire est donc exceptionnelle, alors que la présence du virus

(1) Cf. également les résultats relatés par MARIANI (*Arch. f. Dermatol. u. Syphil.*, 147, 1924, p. 259), et par VERATTI et SALA (*Bull. Soc. Medico-chir. di Pavia*, 36, 1923, fasc. 4).

dans la muqueuse nasale est relativement fréquente [Cf. également les essais de Teissier, Gastinel et Reilly (1)].

Ainsi, rien n'autorise, actuellement, à considérer la voie pulmonaire comme jouant un rôle effectif dans la dispersion du virus herpétique administré au lapin par instillation nasale.

CONCLUSIONS. — Le virus de l'herpès, introduit dans les narines du lapin, confère l'encéphalite herpétique. Le germe se localise sur la muqueuse du nez, s'y multiplie et y engendre des altérations inflammatoires (rhinite herpétique). Ce processus local, véritable « chancre d'inoculation », conditionne l'élimination du germe par les sécrétions du nez. La progression du virus vers les centres nerveux (NEUROPROBASIE CENTRIPÈTE) s'effectue le long des connexions neurotiques du revêtement muqueux des fosses nasales. Parmi ces connexions, l'appareil sensoriel olfactif paraît jouer un rôle effectif, qu'il partage, cependant avec les ramifications du trijumeau et du sympathique cervical.

II. — VOIE DIGESTIVE.

Les données recueillies récemment par Levaditi, Kling et leurs collaborateurs Lépine et Hornus (*loc. cit.*) dans le domaine de la poliomyélite, nous ont engagés à entreprendre l'étude du problème de la pénétration du virus herpétique, après administration *per os*. Voici le résumé de nos essais :

1° Administration du virus herpétique par voie buccale :

EXPÉRIENCE 1. — Une émulsion névraxique provenant du lapin 413 est administrée par la sonde gastrique (7 cent. cubes) et à trois reprises quotidiennes, aux lapins 436 A, 437 A et 438 A.

Le lapin 436 A succombe le cinquième jour. Son encéphale présente de légères altérations monocytaires méningées (*absence de lésions herpétiques neuroniques*); inoculé au lapin 447 A, il provoque la mort en trois jours [encéphalite herpétique caractéristique] (schéma 4).

Le lapin 437 A meurt le neuvième jour. L'encéphale, altéré spécifiquement, est virulent; inoculé au lapin 462 A, il engendre une névraxite mortelle en trois jours.

Le lapin 438 A meurt le quatrième jour. Son cerveau, atteint de légère méningite monocytaire, est inoculé au lapin 446 A, qui succombe d'encéphalite herpétique le cinquième jour.

(1) TEISSIER, GASTINEL et REILLY. *C. R. Soc. de Biol.*, 91, 1924, p. 171.

EXPÉRIENCE 2. — Virus provenant du lapin 496 A. Administration de 7 cent. cubes d'émulsion virulente au lapin 673 A (trois ingestions). Celui-ci succombe le septième jour. L'examen histologique de son névraxe révèle la présence d'altérations herpétiques basilaires de l'encéphale et de poliomyélite antérieure (moelle lombaire). L'inoculation du cerveau au lapin 729 A provoque une encéphalite herpétique mortelle en cinq jours; celle de la moelle épinière, effectuée au lapin 730 A, fournit un résultat identique (mort du lapin en trois jours).

EXPÉRIENCE 3. — Virus provenant du lapin 496 A. Première administration de 7 cent. cubes d'émulsion névraxique virulente au lapin 671 A (trois ingestions). Aucun effet. Seconde administration *per os* de 7 cent. cubes, pratiquée vingt et un jours après la première. L'animal succombe quatre jours après

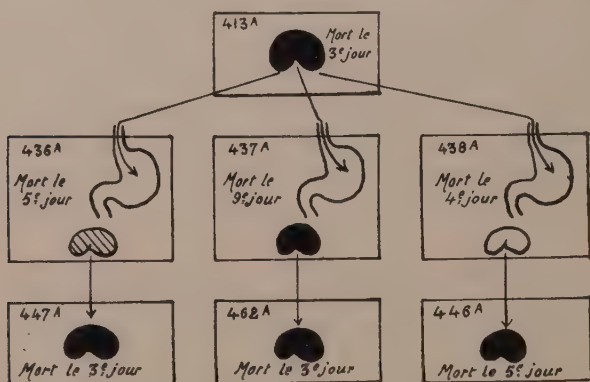


SCHÉMA 4.

cette dernière infection *per os*. Son cerveau montre des altérations de méningite monocytaire, mais point de lésions herpétiques neuroniques. Il est inoculé au lapin 800 A, alors que la moelle est administrée au lapin 801 A. Le premier de ces animaux meurt le quatrième jour, le second succombe le deuxième jour. Examen histologique de l'encéphale : altérations herpétiques typiques.

EXPÉRIENCE 4. — Virus provenant du lapin 496 A. — Première administration *per os* de 7 cent. cubes émulsion névraxique virulente au lapin 672 A (trois ingestions). Aucun effet. Deuxième administration *per os* de 7 cent. cubes. L'animal succombe quatre jours après cette dernière ingestion. Son cerveau offre des altérations de méningite monocytaire, mais pas de lésions herpétiques des neurones. Il est inoculé au lapin 802 A, qui succombe le cinquième jour (altérations positives), alors que la moelle épinière est administrée, par voie transcranienne, au lapin 803 A. Celui-ci meurt le quatrième jour (lésions herpétiques manifestes).

L'ensemble de ces essais montre que parmi les six animaux auxquels nous avons fait ingérer le virus herpétique, quatre ont

contracté l'encéphalite après une première série de trois ingestions quotidiennes (7 cent. cubes), et deux après une deuxième série (vingt jours après la première). Il est donc hors de doute que *si l'on a soin de s'adresser à une souche d'herpès éminemment virulente et parfaitement adaptée au lapin, il est possible de conférer l'encéphalopathie spécifique en administrant le virus par la sonde gastrique.*

*
* *

Étant donnée la facilité avec laquelle on peut infecter le lapin, en déposant quelques gouttes de virus sur la muqueuse

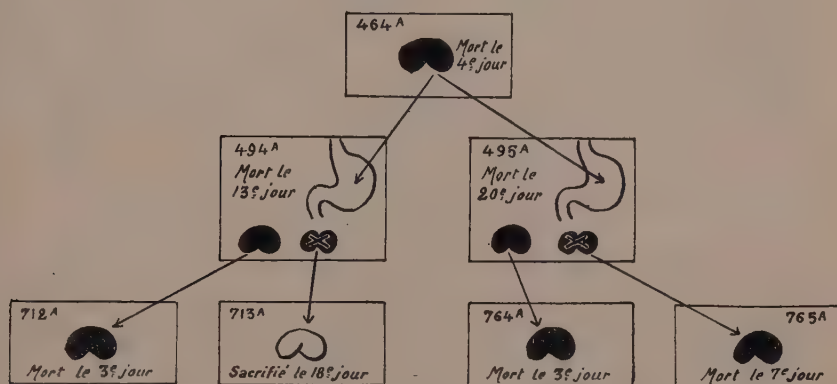


SCHÉMA 5.

naso-pharyngée, on peut supposer que dans les essais précédents, une trace de ce virus a pu humecter cette muqueuse, au moment de l'introduction de l'émulsion névrauxique par la sonde stomacale. Dans ce cas, la dispersion du germe dans l'organisme s'effectuerait à partir de la muqueuse du naso-pharynx, et non pas du revêtement épithélial gastro-intestinal. Afin d'éluder cette objection, parfaitement justifiée *a priori*, nous avons eu soin d'introduire le virus directement dans la cavité stomacale, après laparotomie. Voici ce que nous enseigne l'expérience à ce sujet :

EXPÉRIENCE. — Virus provenant du lapin 464A. 10 cent. cubes d'émulsion névrauxique virulente sont injectés dans la cavité stomacale des lapins 495A, 494A et 493A, en ayant soin de ne pas contaminer la cavité péritonéale.

Le lapin 495A succombe le vingtième jour. Son cerveau (stérile) offre des

altérations inflammatoires et neuroniques caractéristiques de la zone élective et de la corne d'Ammon. Chromatolyse des cellules pyramidales des cornes antérieures de la moelle épinière. L'inoculation du névraxe au lapin 764A. provoque une encéphalopathie herpétique, qui tue l'animal en trois jours; celle de la moelle au lapin 765A. produit le même effet en sept jours (schéma 5).

Lapin 494 A. — Même virus, même procédé expérimental. L'animal, inoculé par voie intra-stomacale, succombe le treizième jour. *Examen histologique. Encéphale:* méningite monocytaire corticale. début de périvascularite, lésions inflammatoires de la zone élective, altérations neuroniques oxyphiles. *Moelle épinière:* périvascularite et chromatolyse au niveau de la substance grise des cornes antérieures. Voici le résultat des vérifications de la virulence névraxique:

Encéphale: résultat positif; mort en trois jours du lapin-test n° 712 A.

Moelle épinière: résultat négatif (lapin 713 A).

Sympathique abdominal: résultat négatif (Schéma 5).

Lapin 493 A. — Même virus, même dispositif expérimental. L'animal, inoculé par voie intra-stomacale, survit. Il est contaminé *sans succès* par la sonde stomacale trois ingestions, virus du lapin 758A) vingt-six jours après. L'animal est infecté par voie nasale quinze jours après cette seconde tentative (virus du lapin 818A). Il succombe le huitième jour. Son cerveau est indemne d'altérations herpétiques; passage négatif.

CONCLUSIONS. — *L'introduction du virus de l'herpès dans la cavité stomacale du lapin, a déterminé l'encéphalite spécifique dans deux cas sur trois essais.*

Nul doute possible : *l'introduction du virus herpétique dans la cavité stomacale du lapin est suivie d'une dispersion du germe dans le névraxe, ainsi qu'en témoigne la virulence de l'encéphale et de la moelle épinière de l'animal inoculé.*

L'objection formulée il y a un instant se trouve ainsi éliminée : *c'est bel et bien par la muqueuse digestive que le virus, administré per os, pénètre dans l'organisme pour envahir consécutivement le névraxe.*

*
* *

Peut-on préciser le *segment du tractus gastro-intestinal qui se prête à cet envahissement?* L'étude préliminaire de ce problème (étude que nous poursuivons) nous a montré que *contrairement à ce qui a lieu lorsqu'on introduit le virus herpétique directement dans l'estomac, son injection dans une anse de l'intestin grêle ne confère pas l'encéphalopathie herpétique.*

Témoins les essais suivants :

EXPÉRIENCE. — Virus provenant du lapin 382A. Inoculation de 10 cent. cubes émulsion névraxique dans une anse de l'intestin grêle aux lapins 410A, 411A et 412A (toutes les précautions sont prises pour que le liquide injecté ne contamine pas la cavité péritonéale).

Lapin 410 A. — Aucun effet. L'animal est contaminé par la sonde stomacale (7 cent. cubes d'émulsion névraïque, à trois reprises) vingt-neuf jours après. Il succombe le quarante et unième jour, non d'herpès, mais de septicémie généralisée (absence de lésions cérébrales).

Résultat : l'inoculation intra-intestinale n'a été suivie d'aucune manifestation encéphalitique.

Lapin 411 A. — Même virus, même dispositif expérimental. L'inoculation intra-intestinale reste sans effet. Réinfection par voie buccale le vingt-neuvième jour. Le lapin succombe cinq jours après la première ingestion. L'encéphale révèle la présence de légères altérations de méningite corticale lymphocytaire. Son cerveau et sa moelle servent à inoculer les lapins 706 A et 707 A. Le premier meurt le cinquième jour, le second le troisième jour, tous deux porteurs d'altérations herpétiques caractéristiques.

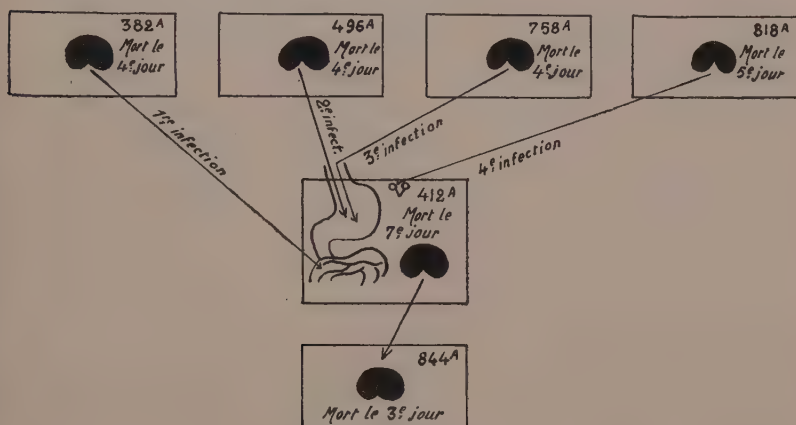


SCHÉMA 6.

Résultat : Un animal qui a résisté à l'inoculation du virus dans une anse de l'intestin grêle, s'est montré réceptif à l'égard d'une contamination par la sonde gastrique.

Lapin 412 A. — Même virus, même dispositif expérimental. L'animal résiste à une première infection par voie intestinale. Deuxième infection par voie buccale (sonde gastrique) vingt-neuf jours après. Résultat négatif. Troisième infection effectuée de la même manière, le quarante-huitième jour (virus du lapin 758 A). Aucun effet. Enfin, quatrième inoculation par voie nasale, le soixante-troisième jour. L'animal succombe le septième jour. Altérations cérébrales caractéristiques et passage positif sur le lapin 844 A (mort le troisième jour) [Schéma 6].

Résultat : Un lapin, ayant résisté à une contamination par voie intestinale et à deux infections par la sonde gastrique, a contracté l'encéphalopathie herpétique après administration du virus dans les narines.

L'ensemble de ces essais montre (tout au moins provisoirement) que l'inoculation du virus herpétique dans une anse de

l'intestin grêle ne provoque pas, chez le lapin, l'encéphalopathie spécifique. Une telle inoculation ne confère pas non plus l'immunité à l'égard de la contamination per os (lapin 411A). Enfin, un sujet (lapin 412A), réfractaire à des infections intestinales et buccales, a contracté la névrauxite herpétique après instillation de virus dans les fosses nasales (1).

* *

Il importe d'attirer l'attention sur le fait que chez la plupart des lapins inoculés avec succès par voie stomacale, l'encéphale ne présentait que des altérations discrètes, consistant en une méningite lymphocytaire du cortex et des septums, non accompagnée de lésions neuroniques herpétiques. La discrétion de ces modifications histologiques n'exclut pas la virulence du névraxe, au contraire : de tels névraxes étaient, en effet, parfaitement virulents pour d'autres sujets neufs.

Discussion et Conclusions.

Il a été examiné dans ce Mémoire les possibilités de la contamination du lapin par le virus herpétique administré, d'une part, par voie naso-pharyngée, d'autre part, par voie digestive.

En ce qui concerne la *voie naso-pharyngée*, il a été démontré que l'animal est, pour ainsi dire, constamment réceptif, si l'on a soin d'instiller le germe dans les fosses nasales (à une ou plusieurs reprises), quelles que soient la richesse de l'émulsion en virus et les souches herpétiques utilisées. L'ultravirus de l'herpès se localise dans la muqueuse du nez, où il provoque des altérations inflammatoires et dégénératives. Ces altérations conditionnent la virulence du revêtement muqueux et des sécrétions que celui-ci élabore. Il se constitue, de la sorte, un foyer infectieux local, véritable *chancre d'inoculation*, offrant

(1) Cette expérience rappelle celles qu'ont réalisées, avec le virus poliomyélique chez le singe, KLING, LEVADITI et HORNUS (*Bull. Acad. Méd.*, 111, 1934, p. 709). En effet, des simiens ayant résisté à des inoculations virulentes pratiquées dans une anse intestinale et *per os*, ont contracté la paralysie infantile après infection par les fosses nasales.

plus d'une analogie avec la kératite herpétique, et d'où le germe se détache pour se diriger vers le névraxe. Le chemin parcouru par le virus pour atteindre les centres encéphaliques est celui des connexions nerveuses de la muqueuse naso-pharyngée. Parmi ces connexions, l'appareil sensoriel olfactif paraît intervenir effectivement, mais il n'est pas le seul à remplir un tel rôle. Les ramifications sensitives du trijumeau et du sympathique peuvent s'y substituer. En somme, tout se passe ici comme lorsqu'on administre le virus herpétique par voie cornéenne ; la rétine et le nerf optique d'une part (Levaditi, Harvier et Nicolau, *loc. cit.*), la branche ophtalmique du trijumeau [Blanc et Caminopetros (1), Howard (2), Friedenwald (3), Goodpasture et Teague (4), Marinesco et Draganesco (5), etc.], d'autre part, se partagent la neuroprobasie centripète. Des essais de vérification ont montré, d'ailleurs, que la voie trachéo-pulmonaire n'intervient pas dans la dispersion du virus après instillation dans les cavités nasales.

En ce qui concerne la *voie digestive*, il a été prouvé que le lapin est facilement contaminé lorsque le virus est administré par la sonde stomacale, ou par introduction d'émulsion névrauxique virulente directement dans l'estomac. Par contre, il semble résister à l'inoculation dans une anse intestinale, sans qu'une telle inoculation confère l'état réfractaire. Peut-être faut-il incriminer ici le péristaltisme de l'intestin grêle, lequel, chassant le virus vers le *colon*, en rend l'absorption plus difficile (6). Peut-être aussi faut-il accuser les réactions des sucs intestinaux, l'action virulicide de la bile (7), et l'influence de la flore microbienne de l'intestin. Ce sont là autant de problèmes que des recherches futures permettront de résoudre.

En attendant, voici les conclusions que nos investigations actuelles permettent de formuler :

- (1) BLANC et CAMINOPETROS. *C. R. Soc. Biol.*, **84**, 1921, p. 629.
- (2) HOWARD, *Trans. Amer. Med. Assoc. Phys.*, **17**, 1902, p. 189 ; **20**, 1905, p. 165.
- (3) FRIEDENWALD, *Arch. of Ophthalmology*, **52**, 1923, p. 705.
- (4) GOODPASTURE et TEAGUE, *Journ. of Med. Res.*, **44**, 1923, p. 39.
- (5) MARINESCO et DRAGANESCO. *Ces Annales*, **37**, 1923, p. 753.
- (6) Cf. les expériences sur la poliomyélite, relatées par TOOMEY (*Proc. of Soc. exp. Biol. and Med.*, **31**, 1934, p. 680).
- (7) La bile détruit *in vitro* le virus de l'herpès. Cf. LEVADITI et HARVIER, *C. R. Soc. de Biol.*, **84**, 1921, p. 388 ; BLANC, TSIMINAKIS et CAMINOPETROS, *idem*, **85**, 1921, p. 290.

CONCLUSIONS : 1° *Le lapin est susceptible d'être contaminé par le virus herpétique instillé dans les fosses nasales ;*

2° *Le germe détermine, au niveau de la muqueuse du nez, des altérations locales virulentes (chancres d'inoculation) et s'élimine par les sécrétions de cette muqueuse ;*

3° *Pour atteindre les centres nerveux et y provoquer l'encéphalopathie herpétique, le virus suit les connexions nerveuses de la muqueuse naso-pharyngée, en particulier l'appareil olfactif, le trijumeau et le sympathique cervical (neuroprobasie centripète) ;*

4° *L'appareil trachéo-pulmonaire ne semble pas intervenir dans la dispersion du germe administré par instillations nasales ;*

5° *Il est possible de contaminer le lapin per os et par inoculation du virus dans la cavité stomacale ;*

6° *Par contre, il paraît difficile, sinon impossible, d'engendrer l'infection herpétique du névraxe, en introduisant le germe dans une anse de l'intestin grêle.*

RECHERCHES SUR L'IMPORTANCE DU MANGANÈSE POUR LES ANIMAUX (1)

par MM. GABRIEL BERTRAND et HIROSI NAKAMURA.

Continuant à utiliser la technique que l'un de nous avait inaugurée avec B. Benzon en 1922, en vue d'établir, par une méthode directe, l'importance du zinc dans la vie animale (2), technique que nous avons appliquée plus tard avec succès au cas du fer (3), puis du nickel et du cobalt (4), nous avons cherché s'il était également possible de mettre en évidence le rôle du manganèse.

Nos nouvelles expériences ont été effectuées sur six séries d'animaux et ont comporté, dans l'ensemble, 34 individus. Toutes les particularités et toutes les précautions déjà décrites à propos du zinc, du fer, du nickel et du cobalt ont été scrupuleusement suivies : purification minutieuse des aliments, utilisation exclusive d'individus d'une même portée dans chaque série d'expériences, emploi d'un bocal en verre spécialement aménagé au lieu de cage, etc. Le mélange nutritif est resté celui de G. Bertrand et B. Benzon, avec ou sans manganèse, mais additionné de nickel et de cobalt, aux doses que nous avons indiquées dans notre dernière publication.

2 jeunes souris n'ont pu s'adapter au régime auquel nous les avons soumises et sont mortes d'inanition les premiers jours. 4 autres ont présenté, au contraire, cette singulière résistance à la privation totale de vitamines reconnue au cours des recherches antérieures (5) et nous avons été obligés, par éco-

(1) Un extrait de ce mémoire a été publié dans les *C. R. Ac. Sc.*, **186**, 1928, p. 1480.

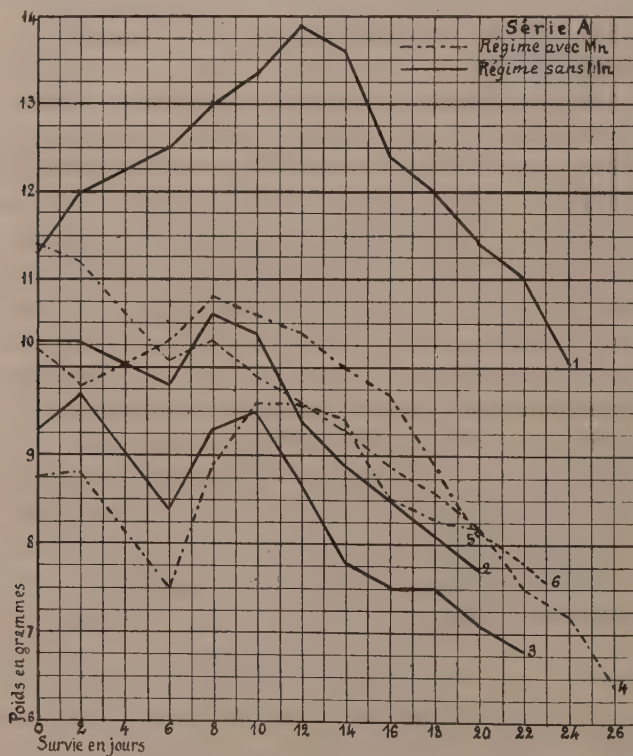
(2) G. BERTRAND et B. BENZON. *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 405 et p. 449; *Bull. Soc. Chim. biol.*, **6**, 1924, p. 203 et p. 394.

(3) G. BERTRAND et H. NAKAMURA. *Ces Annales*, **39**, 1925, p. 698; *B. Soc. Chim. biol.*, **7**, 1925, p. 933.

(4) G. BERTRAND et H. NAKAMURA, note *C. R. Ac. Sc.*, **185**, 1927, p. 321, et mémoire *Ces Annales*, **53**, 1934, p. 371.

(5) G. BERTRAND et B. BENZON. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **6**, 1924, p. 394; *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 449; G. BERTRAND et H. NAKAMURA. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **7**, 1925, p. 942; *Ces Annales*, **39**, 1925, p. 708.

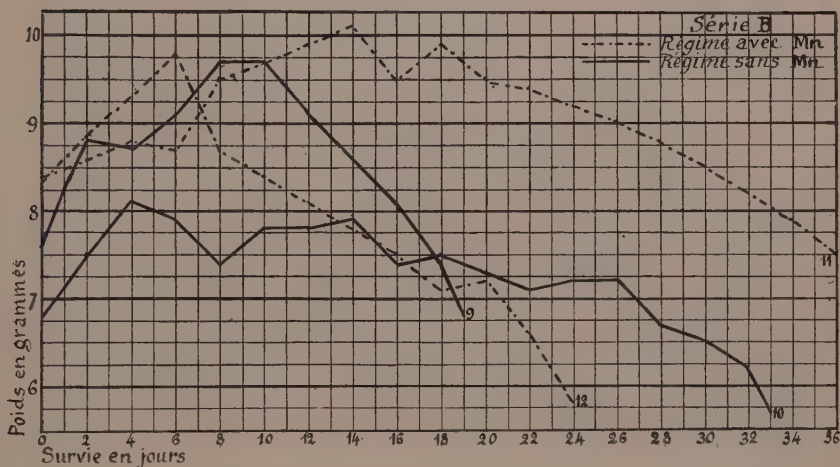
		POIDS DES SOURIS en grammes		ALIMENT consommé en grammes	SURVIE en jours
		Au début	A la mort		
SÉRIE A. — Débutant le 23 avril 1927 avec des souris blanches nées le 31 mars 1927 (âgées de vingt-trois jours).					
Sans manganèse.	{ N° 1 (femelle) . .	11,30	10,05	48,60	24
	{ N° 2 (mâle) . . .	10,30	7,70	36,40	20
	{ N° 3 (mâle) . . .	9,30	6,80	40,60	22
Avec manganèse.	{ N° 4 (mâle) . . .	11,40	6,40	39,90	26
	{ N° 5 (femelle) . .	10,20	8,10	34,00	20
	{ N° 6 (mâle) . . .	9,50	8,50	2,30	5 (inanition).
	{ N° 7 (mâle) . . .	8,75	7,60	37,60	23



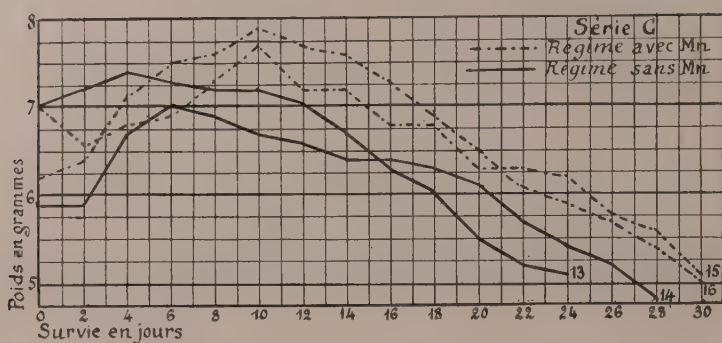
nomie, d'interrompre leur alimentation artificielle après quarante à cinquante jours. Le signe ∞ les désigne dans le tableau ci-dessous, qui résume la totalité des résultats obtenus :

		POIDS DES SOURIS en grammes		ALIMENT consommé en grammes	SURVIE en jours
		Au début	A la mort		
SÉRIE B. — Débutant le 9 mai 1927 avec des souris blanches nées le 17 avril 1927 (âgées de vingt-deux jours).					
Sans manganèse.	{ N° 8 (mâle) . . .	8,60		(1)	∞ (> 50)
	{ N° 9 (femelle) . .	7,60	6,80	31,20	19
	{ N° 10 (femelle) . .	6,80	5,70	51,30	33
Avec manganèse.	{ N° 11 (mâle) . . .	8,40	7,50	53,60	36
	{ N° 12 (femelle) . .	8,30	5,80	26,70	24

(1) L'expérience avec l'aliment artificiel a été interrompue à partir du cinquantième jour. Quantité d'aliment consommée : 103 gr. 6.

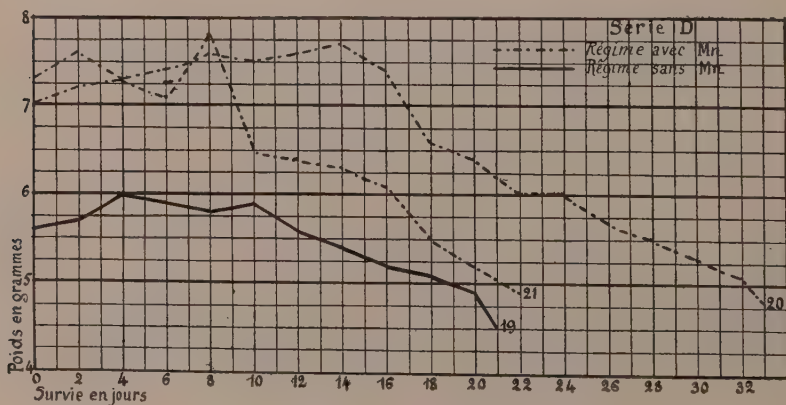


		POIDS DES SOURIS en grammes		ALIMENT consommé en grammes	SURVIE en jours
		Au début	A la mort		
SÉRIE C. — Débutant le 27 mai 1927 avec des souris blanches nées le 6 mai 1927 (âgées de vingt et un jours).					
Sans manganèse.	{ N° 13 (mâle) . . .	7,00	5,10	34,80	24
	{ N° 14 (mâle) . . .	5,90	4,80	28,40	28
Avec manganèse.	{ N° 15 (mâle) . . .	7,00	5,10	31,20	30
	{ N° 19 (femelle) . .	6,20	5,00	29,30	30



		POIDS DES SOURIS en grammes		ALIMENT consommé en grammes	SURVIE en jours
		Au début	A la mort		
SÉRIE D. — <i>Débutant le 8 juin 1927 avec des souris blanches nées le 19 mai 1927 (âgées de vingt et un jours).</i>					
Sans manganèse.	{ N° 17 (mâle) . .	7,60		(1)	∞ (> 45)
	{ N° 18 (mâle) . .	6,60		(2)	∞ (> 45)
	{ N° 19 (femelle) .	5,60	4,59	37,20	21
Avec manganèse.	{ N° 20 (mâle) . .	7,30	4,80	41,60	33
	{ N° 21 (mâle) . .	7,00	4,90	21,80	22
	{ N° 22	6,10	5,80	(3)	∞ (> 40)

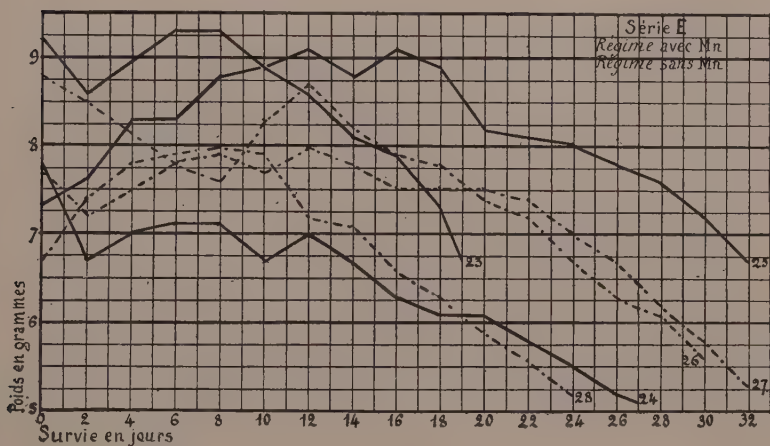
(1) L'expérience avec l'aliment artificiel a été interrompue à partir du quarante-cinquième jour. Quantité d'aliment consommée : 82 gr. 8.
(2) L'expérience avec l'aliment artificiel a été interrompue à partir du quarante-cinquième jour. Quantité d'aliment consommée : 55 gr. 6.
(3) L'expérience avec l'aliment artificiel a été interrompue à partir du quarantième jour. Quantité d'aliment consommée : 57 gr. 5.



POIDS DES SOURIS en grammes		ALIMENT consommé en grammes	SURVIE en jours
Au début	A la mort		

SÉRIE E. — Débutant le 8 juin 1927 avec des souris blanches
nées le 18 mai 1927 (âgées de vingt et un jours).

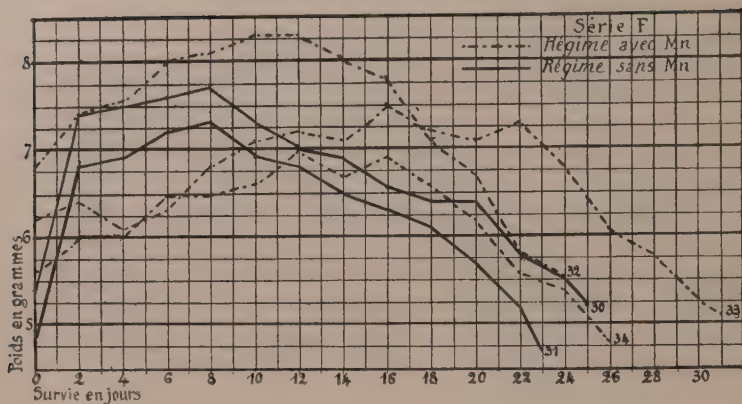
Sans manganèse.	N° 23 (femelle) .	9,20	6,70	30,50	19
	N° 24 (mâle) . .	7,80	5,10	33,50	27
	N° 25 (mâle) . .	7,30	6,70	58,10	32
Avec manganèse.	N° 26 (femelle) .	8,80	5,60	32,80	30
	N° 27 (femelle) .	7,70	5,30	28,80	32
	N° 28 (femelle) .	6,70	5,20	33,50	24



POIDS DES SOURIS en grammes		ALIMENT consommé en grammes	SURVIE en jours
Au début	A la mort		

SÉRIE F. — Débutant le 24 juin 1927, avec des souris blanches
nées le 3 juin 1927 (âgées de vingt et un jours).

Sans manganèse.	N° 29 (mâle) . .	7,10	6,50	0,00	2 (inanition).
	N° 30 (mâle) . .	5,40	5,20	34,90	25
	N° 31 (femelle) .	4,90	4,70	27,60	23
Avec manganèse.	N° 32 (femelle) .	6,80	5,50	29,00	24
	N° 33 (femelle) .	6,20	5,10	44,20	31
	N° 34 (mâle) . .	5,60	4,80	30,90	26



Mis à part les deux individus morts d'inanition et les quatre dont la résistance exceptionnelle ne permet pas de tenir compte, il nous est resté 13 souris alimentées sans manganèse avec une survie moyenne de vingt-quatre jours quatre dixièmes et 15 souris ayant reçu du manganèse dont la survie moyenne a été de vingt-sept jours quatre dixièmes.

Comme dans les recherches antérieures, nous avons constaté qu'une partie du métal en expérience avait été retenue par l'organisme des jeunes animaux. En opérant sur 13 individus des lots nourris sans manganèse et sur 15 individus des lots nourris avec manganèse, nous avons dosé, en moyenne :

CHEZ LES SOURIS ALIMENTÉES	MANGANÈSE en milligrammes par			
	souris	kilogr. frais	kg.-sec.	kilogr. de cendres
Sans manganèse	0,0006	0,10	0,36	1,48
Avec manganèse	0,0060	1,04	3,69	16,60

Il avait été reconnu que le manganèse, partout présent chez les plantes (1), est indispensable au développement de la

(1) Voir notamment G. BERTRAND et M. ROSENBLATT, *Ces Annales*, 35, 1921, p. 815; *Bull. Soc. Chim.* (4), 29, 1921, p. 910.

matière végétale (1); les nouveaux résultats que nous publions aujourd'hui, joints à ceux que Mac Hargue a récemment obtenus avec le rat, en employant une technique très voisine de la nôtre (2) s'accordent avec l'idée que le manganèse, partout présent chez les animaux (3), intervient aussi dans l'ensemble des échanges nutritifs de la matière animale.

(1) Voir notamment G. BERTRAND, *Ces Annales*, 26, 1912, p. 773; *Bull. Soc. Chim.* (4), 11, 1912, p. 494.

(2) MAC HARGUE, *The Amer. Journ. of Physiology*, 77, 1926, p. 245.

(3) G. BERTRAND et M. F. MEDIGRECEANU, *Ces Annales*, 26, 1912, p. 1013 et 27, 1913, p. 1; *Bull. Soc. Chim.* (4), 11, 1912, p. 665 et p. 857.

**DE L'ACTION DES SÉCRÉTIONS STAPHYLOCOCCIQUES
SUR LES HÉMATOBLASTES :
LEUR RÔLE DANS LA PRODUCTION DES THROMBI
POST-OPÉRATOIRES**

Par O. GENGOU.

(Laboratoire d'hygiène de l'Université de Bruxelles.)

Ainsi que nous l'avons rappelé dans une note antérieure [1], plusieurs auteurs ont observé et étudié l'action coagulante qu'exercent certains microbes, particulièrement le staphylocoque, sur le plasma oxalaté de divers animaux, notamment sur le plasma de lapin. Nous avons établi dans cette note que, ainsi que H. Gross [2] l'avait déjà signalé, les cultures de staphylocoques en bouillon oxalaté, débarrassées par centrifugation de la plus grande partie de leurs germes et chauffées ensuite à 100°, possèdent la même propriété. Cette action s'exerce, comme nous l'avons démontré, sans que l'on puisse mettre en évidence ni la formation de thrombine, ni la participation des facteurs sanguins nécessaires à l'apparition de cette dernière. Les cultures staphylococciques provoquent de même la coagulation du fibrinogène pur; mais cette coagulation est passagère et rapidement suivie de la lyse du caillot. Nous avons conclu dans la même note que la coagulation du fibrinogène et la lyse du caillot semblent dues à la même substance microbienne, la staphylocoagulase.

Ainsi que nous croyons l'avoir bien établi, les globulines et surtout les albumines du plasma exercent, par contre, un effet inhibiteur plus ou moins accentué sur les phénomènes de coagulation et de fibrinolyse dus à la staphylocoagulase. Suivant les quantités de globulines ou d'albumines employées, l'action de la staphylocoagulase est complètement entravée ou s'arrête au stade de la coagulation, sans que la fibrinolyse se produise.

Cette action inhibitrice de certaines matières protéiques du

plasma doit vraisemblablement être rapprochée de l'entrave exercée par les mêmes substances sur d'autres protéolyses, par exemple sur la fibrinolyse due à l'action de la thrombine pure (Nolf) [3].

Au cours de ces recherches, nous avons également observé l'action exercée sur les plaquettes sanguines par les cultures staphylococciques en milieu liquide, après qu'on les a débarrassées de tout germe vivant. C'est à cette action que la présente note est consacrée. Nous nous occuperons d'abord du pouvoir agglutinant que possèdent à l'égard des hémato blasts les cultures staphylococciques en bouillon oxalaté, soumises à l'ébullition après centrifugation et contenant de la staphycoagulase.

EXPÉRIENCE I. — Du sang de lapin étant recueilli stérilement dans une solution d'oxalate de potassium à 1 p. 100, à raison de 9 volumes de sang pour 1 volume de solution oxalatée, on en sépare les plaquettes en procédant d'abord à une centrifugation douce et courte ce qui fournit un plasma riche en plaquettes et dépouillé d'autres cellules, puis à une centrifugation énergique et prolongée qui permet d'obtenir un sédiment important d'hématoblastes. Ceux-ci sont ensuite lavés deux fois dans un grand volume d'eau physiologique oxalatée à 1 p. 1.000, puis remis en suspension dans un volume de ce liquide, égal à 1/10^e du volume du plasma oxalaté originel.]

Une quantité déterminée de cette émulsion parfaitement homogène est introduite dans une série de tubes. On y ajoute des volumes décroissants de staphylocoagulase oxalatée, le volume final étant égalisé dans tous les tubes par l'adjonction d'une quantité appropriée de bouillon oxalaté, de même pH (7,3 à 7,4) que la staphylocoagulase. Les tubes sont placés en chambre humide à 37°; les résultats observés après dix à douze heures.

L'expérience se dispose donc comme suit :

	1	2	3	4	5	6
Emulsion de plaquettes, en centimètre cube . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Bouillon oxalaté, en centimètre cube.		0,5	0,625	0,75	0,85	1
Staphylocoagulase oxalatée, en centimètre cube . .	1	0,5	0,375	0,25	0,15	
Résultats après 12 heures.	Agglut. forte.	Agglut. forte.	Agglut. nette.	Agglut. faible.	Agglut. nulle.	Agglut. nulle.

Il est aisé de s'assurer que l'agglutination des plaquettes par les cultures liquides de staphylocoques préparées de la sorte n'est pas due aux germes microbiens tués par la chaleur et persistant dans le liquide malgré la centrifugation.

EXPÉRIENCE II. — Mettons en suspension dans du bouillon oxalaté des staphylocoques cultivés sur gélose et lavés deux fois à l'eau physiologique oxalâtée. Après avoir porté cette émulsion à 100° pendant cinq minutes, faisons-en des dilutions de plus en plus étendues dans du bouillon oxalaté jusqu'à obtention de concentrations si faibles que le liquide reste limpide. Quelle que soit celle de ces émulsions mise au contact des plaquettes, celles-ci ne subissent aucune agglutination.

Divers faits portent à admettre que l'agglutination des plaquettes dans les conditions où nous l'avons observée est due à la staphylocoagulase.

Tout d'abord, la propriété agglutinante des cultures liquides de staphylocoques à l'égard des hémotoblastes s'est toujours révélée concomitante de l'action coagulante de ces cultures sur le plasma oxalaté de lapin.

EXPÉRIENCE. III. — Deux souches staphylococciques, isolées de pulpe vaccinale, qui, cultivées en plasma oxalaté de lapin, se montrent incapables d'en provoquer la coagulation, ou qui cultivées en bouillon oxalaté fournissent, après centrifugation et ébullition de ces cultures, des liquides sans action sur le plasma oxalaté, sont également impuissantes à déterminer l'agglutination des plaquettes.

Il en est de même du bacille paratyphique B (1).

Par contre, une quinzaine de souches staphylococciques, d'origine variée, mais toujours pathologique, ont produit des cultures liquides capables de coaguler le plasma oxalaté et d'agglutiner les plaquettes en milieu oxalaté.

D'autre part, les liquides actifs ne perdent par la dialyse ni leur propriété d'agglutiner les plaquettes, ni leur pouvoir coagulant pour le plasma. En outre, si on les soumet à l'action de la chaleur, on n'observe l'atténuation de ces deux propriétés qu'après un chauffage de trente minutes à 110° et leur disparition qu'après un chauffage de même durée à 130°.

En réalité, ces observations ne peuvent prétendre qu'à rendre vraisemblable l'unicité de la substance responsable de ces deux propriétés. Ainsi que nous l'avons déjà fait observer dans une note précédente [4], la preuve de cette unicité, quand il s'agit d'une substance de composition chimique inconnue, ne peut guère s'administrer que s'il est possible de priver les liquides qui la contiennent, en une fois, de toutes les propriétés attribuées à cette substance, en mettant ces liquides en contact avec

(1) Ce germe a été utilisé dans ces expériences, en raison du rapprochement qui sera fait plus loin de nos recherches avec les travaux de J. Roskam.

des éléments cellulaires susceptibles de les épuiser spécialement de l'une de ces propriétés. C'est par cette méthode que nous avons pu démontrer [4] que l'hémolyse, le pouvoir leucolytique, la toxicité des bouillons staphylococciques filtrés, de même que leur action lytique sur diverses cellules du lapin, ne sont que des phénomènes d'aspect divers, dus en totalité à une seule et même substance d'origine microbienne.

Puisque les bouillons staphylococciques oxalatés, centrifugés et chauffés, susceptibles de faire coaguler le plasma oxalaté sont également capables d'agglutiner les émulsions de plaquettes en milieu oxalaté, nous avons recherché si en épuisant ces bouillons de cette dernière propriété par des contacts suffisants avec des émulsions d'hématoblastes, on les rend en même temps incapables de provoquer la coagulation du plasma oxalaté.

EXPÉRIENCE IV. — On utilise une culture staphylococcique en bouillon oxalaté, centrifugée, bouillie, qui, diluée à $1/8^e$, coagule 0 c. c. 4 de plasma oxalaté de lapin à la dose de 0 c. c. 1, et qui, diluée à $1/6^e$, agglutine 0 c. c. 1 d'une émulsion de plaquettes en milieu oxalaté à la dose de 0 c. c. 1.

On introduit dans 3 tubes, 1 c. c. 5 d'une émulsion de plaquettes, qu'on soumet à la centrifugation. Après décantation du liquide, on délaie le sédiment d'hématoblastes dans 1 c. c. 6 de la culture staphylococcique préparée comme il est dit ci-dessus et diluée à $1/4$ (t. A.).

Une dose identique de cette culture staphylococcique est mélangée dans un tube B, à une quantité d'eau physiologique oxalatée égale au sédiment de plaquettes du tube A.

Après douze heures de contact, le tube A est centrifugé et le liquide est mis au contact d'un sédiment de plaquettes identique au premier (t. A'). La même opération est faite douze heures après, mettant le liquide en contact d'un troisième sédiment d'hématoblastes (t. A''). Le liquide est ensuite décanté.

On transvase de même successivement dans les tubes B' et B'', contenant un volume d'eau physiologique oxalatée égal à celui des sédiments A' et A'', une quantité des liquides B, puis B', identique au volume des liquides prélevés des tubes A et A'.

On recherche enfin le pouvoir coagulant vis-à-vis du plasma oxalaté et le pouvoir agglutinant pour les plaquettes des liquides A'' et B'' : (v. tableau, page suiv., où les quantités des diverses substances utilisées sont exprimées en centimètres cubes).

L'épreuve d'épuisement simultané par une émulsion de plaquettes du pouvoir agglutinant vis-à-vis de ces cellules et du pouvoir coagulant à l'égard du plasma oxalaté, que possèdent les cultures staphylococciques en bouillon oxalaté après cen-

	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Pouvoir coagulant.</i>								
Liquide A''	0,05	0,1	0,2	0,3	»	»	»	»
Liquide B''	»	»	»	»	0,05	0,1	0,2	0,3
Plasma oxalaté	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Eau physiologique oxalatée.	0,35	0,3	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1
Résultat	Pas de coagulation.				Pas de coagulation.		Coag.	Coag.
<i>Pouvoir agglutinant.</i>								
Liquide A''	0,05	0,1	0,2	0,3	»	»	»	»
Liquide B''	»	»	»	»	0,05	0,1	0,2	0,3
Plaquettes oxalatées	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Eau physiologique oxalatée.	0,35	0,3	0,2	0,1	0,35	0,3	0,2	0,1
Résultat	Pas d'agglut.	Agglut. très faible.	Agglut. très faible.	Agglut. faible.	Pas d'agglut.	Agglut. nette.	Agglut. très nette.	Agglut. très nette.

trifugation et chauffage, donne conséquemment des résultats concordant avec les faits relatés plus haut au sujet de l'unicité de la substance microbienne responsable de ces deux propriétés. Toutes ces observations tendent à démontrer que celles-ci relèvent d'une seule et même substance, la staphylocoagulase.

*
* *

On doit dès lors se demander si ce phénomène ne résulte pas d'un simple entraînement des plaquettes par la rétraction d'un caillot produit par l'action de la staphylocoagulase sur les traces de plasma persistant éventuellement dans l'eau physiologique oxalatée après lavage de ces cellules.

Cette hypothèse mérite d'autant plus d'être retenue que l'agglutination des plaquettes, tout comme la coagulation du plasma oxalaté, sous l'influence des milieux contenant de la staphylocoagulase, ne s'observe pas à 0°.

L'expérience suivante montre qu'il n'en est rien :

EXPÉRIENCE V. — On détermine d'abord la dilution maximale de plasma oxalaté dans laquelle celui-ci peut encore être décelé. On introduit dans 0 c. c. 5 dilution de plasma oxalaté de 1/500 à 1/20.000 dans l'eau physiologique oxalatée, 0 c. c. 025 d'une solution de CaCl_2 à 2 p. 100 (d'où formation d'un trouble d'oxalate de calcium) et 0 c. c. 25 de sérum frais oxalaté. On n'observe pas la production de caillot; mais sous l'influence du sérum, l'oxalate de calcium est entraîné en gros grumeaux dans les dilutions de plasma

à 1/500-1/2.500, en grumeaux très petits dans la dilution à 1/5.000. Cet entraînement est douteux dans la dilution à 1/10.000, et nul dans les dilutions subséquentes, tout comme pour l'oxalate de calcium formé dans l'eau physiologique oxalatée privée de plasma.

Cette méthode permettant de déceler dans un liquide la présence de plasma dilué au 1/10.000, peut être utilisée pour rechercher si après des lavages répétés d'une émulsion de plaquettes, on peut encore déceler la présence de plasma dans les eaux de ces lavages, à un moment où les plaquettes ainsi lavées sont encore parfaitement agglutinables par la staphylocoagulase.

En opérant de la sorte, on constate que si on soumet des plaquettes à cinq lavages successifs à l'eau physiologique oxalatée, la dernière eau ne contient plus de traces décelables du plasma, tandis que l'émulsion d'hématoblastes est néanmoins très bien agglutinée par la staphylocoagulase.

On peut en conclure que cette agglutination ne constitue pas simplement un phénomène consécutif à la coagulation par la staphylocoagulase de traces de plasma restées libres dans le liquide.

Mais cette expérience ne permet pas de nier que l'agglutination des plaquettes puisse être la conséquence de l'existence d'une mince couche de substances plasmatiques accolées au protoplasme de ces cellules, substances plasmatiques qui, se coagulant sous l'action de la staphylocoagulase, entraîneraient, par la rétraction de la fibrine ainsi formée, les plaquettes en un agglomérat.

Cette hypothèse peut être d'autant moins écartée que, dans sa thèse sur la physiologie normale et pathologique du globulin, J. Roskam [5] a consacré de nombreuses expériences à la démonstration de l'existence de cette couche de substances plasmatiques adhérentes à la surface des plaquettes.

Sans vouloir entrer ici dans la discussion des recherches si intéressantes de cet auteur, nous voudrions cependant souligner l'importance que prend dans une étude semblable, ainsi que le dit lui-même J. Roskam, la formule d'Ostwald, d'après laquelle la quantité de matière dissoute adhérente à un précipité diminue avec la répétition des lavages. Il en résulte qu'au fur et à mesure que se multiplient les lavages d'un précipité ayant adsorbé une substance dissoute, la concentration de cette dernière arrachée au précipité diminue progressivement dans les eaux successives de lavage, si toutes les autres conditions restent les mêmes.

C'est ainsi que dans l'expérience précédente (exp. V), la teneur en substances plasmatiques des eaux de lavages successifs a diminué progressivement.

Il faut donc interpréter avec prudence des expériences dans lesquelles on voit, au cours de lavages multipliés, s'enrichir progressivement en matières protéiques, les eaux des lavages successifs. Lorsqu'il s'agit d'éléments aussi fragiles que les plaquettes, on est, semble-t-il, en droit de craindre que, dans ce cas, l'augmentation observée soit due, non pas à la mise en liberté d'une quantité plus grande de matières adsorbées, mais à la désintégration progressive de l'élément cellulaire lui-même.

Nous croyons qu'il en est vraisemblablement ainsi, lorsque, ainsi que nous l'avons parfois constaté au cours de lavages successifs de plaquettes, les deux ou trois premières eaux sont absolument incolores et transparentes, tandis que les suivantes montrent une opalescence, d'abord extrêmement faible, puis de plus en plus marquée.

De même, si après deux lavages à l'eau physiologique oxalatée, on laisse à 0°, des plaquettes centrifugées sous forme d'un sédiment surmonté de liquide, ces plaquettes reprises le lendemain et lavées à nouveau donnent un liquide de lavage opalescent tout en devenant inagglutinables, alors que soumis aussitôt après leur obtention à cinq ou six lavages consécutifs à l'eau physiologique oxalatée, les hémotoblastes fournissent des émulsions parfaitement agglutinables, tandis que les eaux de lavage restent limpides.

En résumé, nos recherches nous paraissent exclure, dans le phénomène d'agglutination des plaquettes par la staphylocoagulase, l'intervention de traces de plasma restées à l'état libre dans les émulsions. Elles n'excluent pas d'une manière formelle, par contre, la possibilité de la participation dans ce phénomène, de substances plasmatiques éventuellement retenues par adsorption à la surface des hémotoblastes, substances plasmatiques dont la démonstration nous paraît difficilement accessible par nos moyens actuels d'investigation.

*
*
*

Si l'on examine au microscope les amas de plaquettes formés par la staphylocoagulase, on constate que les cellules, quoique serrées en paquets volumineux les unes contre les

autres, paraissent bien conserver leur individualité respective. Même après plusieurs heures (voire davantage), on peut distinguer les différents éléments cellulaires constitutifs de l'amas.

La staphylocoagulase, qui provoque la formation de ce dernier, ne semble donc pas provoquer dans les cellules agglomérées, de modification comparable à une cytolypse.

Nous avons montré [1] qu'au contraire, la staphylotoxine est susceptible de lyser, non seulement les hématies, les leucocytes, mais aussi d'autres cellules du lapin, parmi lesquelles se rangent les hémotoblastes. Lorsqu'on fait agir sur des plaquettes lavées, en suspension dans de l'eau physiologique oxalatée, une certaine quantité de staphylotoxine oxalatée ne contenant pas de staphylocoagulase, on constate, après séjour du mélange pendant une heure à 37°, un éclaircissement marqué du mélange, tandis que l'examen microscopique permet d'observer une lyse des plaquettes. Celles-ci, flottant isolément dans le liquide, apparaissent sous la forme de disques à peine perceptibles, simplement marqués par un contour extrêmement fin.

Or l'image microscopique des amas résultant de l'agglutination des plaquettes se modifie d'une façon intéressante, si l'on fait agir sur une émulsion de plaquettes, soit de la toxine staphylococcique contenant aussi de la staphylocoagulase, soit successivement de la staphylocoagulase, puis de la toxine.

Dans ces conditions, la toxine, indépendamment de l'action ci-dessus décrite qu'elle exerce sur les plaquettes flottant isolément dans le liquide, entre en contact avec les plaquettes agglomérées par la staphylocoagulase. Si les amas sont assez minimes, on voit peu à peu se modifier leur aspect primitif. Petit à petit, les limites individuelles des cellules s'estompent et l'amas se transforme progressivement en une masse amorphe parsemée de petites granulations. En réalité, cet aspect rappelle celui que divers auteurs, sous le nom de « dégénérescence visqueuse » des plaquettes, ont décrit dans leurs études sur certains thrombi, et dont on peut trouver une image exacte dans les photographies de Homer Wright et Georges R. Minot [6].

Dans les amas volumineux, cette modification ne s'observe

guère qu'à la périphérie des agglomérats, tandis que persiste dans leur intérieur l'aspect consécutif à l'action de la staphylocoagulase seule.

*
* *

Si l'éclaircissement des émulsions de plaquettes, la lyse de ces dernières à l'état isolé et la dégénérescence des agglomérats peuvent s'observer sous l'influence de la staphylolysine agissant sur des hémotoblastes en suspension dans l'eau physiologique oxalatée, tous ces phénomènes sont particulièrement nets lorsque les mélanges contiennent une certaine quantité de liquide plasmatique. Disons tout de suite que ce liquide plasmatique peut être constitué soit par du plasma oxalaté frais ou débarrassé de fibrinogène par un chauffage de trente minutes à 59°, soit par le sérum obtenu par recalcification de ce plasma, que ce sérum, ensuite réoxalaté, soit utilisé frais ou après chauffage à 59°. L'action de ce liquide plasmatique ne peut donc être attribuée ni au fibrinogène, ni à la thrombine, ni au sérozyme, ni à l'alexine.

EXPÉRIENCE VI. — On dispose l'expérience comme suit :

	1	2	3	4	5	6	7
Staphylotoxine fraîche oxalatée (contenant coagulase)...	0,8		0,8		1		
Staphylotoxine oxalatée, chauffée à 70°.		0,8		0,8		1	
Sérum obtenu par recalcification de plasma, oxalaté et chauffé à 59° . . .	0,2	0,2					1
Bouillon oxalaté			0,2	0,2			
Emulsion de plaquettes en eau physiologique oxalatée	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Après quatre heures de séjour à 37°, le mélange est faiblement éclairci dans le tube 3; il l'est fortement dans le tube 1. Il ne l'est pas dans les autres.

Au microscope, les plaquettes sont bien visibles et d'aspect normal dans les tubes 2, 4, 6 et 7. Elles ont un aspect vésiculeux, sont peu réfringentes et faiblement visibles dans les tubes 3 et 5; on ne voit pas dans ces tubes d'amas de plaquettes transformés en masse amorphe. Les plaquettes du tube 1 sont, à l'état isolé, vésiculeuses et très difficilement perceptibles; on voit des amas de plaquettes, dans lesquels on ne peut plus distinguer les différents éléments cellulaires.

Une observation du même ordre peut être faite si, au lieu d'utiliser des hémato blasts, on emploie des leucocytes de lapin. Ceux-ci subissent, comme on le sait, la leucolyse sous l'influence de la toxine staphylococcique; mais la lyse est nettement plus rapide et plus complète, lorsque, comme dans l'expérience précédente, les mélanges renferment une certaine quantité de liquide plasmatique. Sous l'influence de la staphylotoxine seule, on voit le leucocyte primitivement granuleux et de forme irrégulière, se transformer en une vésicule pour ainsi dire parfaitement sphérique, tandis que dans son intérieur persistent un certain nombre de granulations, généralement réunies en un amas recouvrant le noyau, qui reste de la sorte invisible. Par contre, si le mélange contient en outre une certaine quantité de liquide plasmatique, la lyse aboutit à la disparition de toute granulation intracellulaire, le noyau apparaissant dès lors sous la forme d'une petite vésicule, en position excentrique dans le leucocyte lysé.

Il semble, en résumé, que la leucolyse n'est pas complète en l'absence de substance plasmatique, dont la présence permet ou tout au moins facilite son accomplissement total.

*
* * *

Ces faits nous paraissent susceptibles de contribuer à l'interprétation de la genèse des thrombi dits « spontanés » qui surviennent parfois après les traumatismes opératoires.

Dans le remarquable rapport qu'il a présenté à la Société Internationale de Chirurgie, au Congrès tenu à Varsovie en 1929, P. Govaerts [7] a rappelé que l'on désigne sous ce nom « les thrombi qui se constituent, *tout à fait insidieusement* le plus souvent, dans les veines fémorales ou iliaques et tuent brusquement un patient au cours de suites opératoires qui semblaient devoir être dépourvues de complications ».

Ces thrombi se distinguent, cliniquement du moins, de ceux qui se forment en relation directe avec un foyer infectieux, thrombi dont l'origine infectieuse ne prête pas à discussion. Les thrombi dits spontanés se constituent, au contraire, en un endroit qui n'est pas en continuité avec un foyer inflammatoire et où la paroi veineuse ne montre pas de signes évidents d'inflammation.

Ainsi que le rappelle P. Govaerts dans son rapport, auquel nous nous référerons à maintes reprises, ces thrombi spontanés sont formés de deux parties : la « tête », qui se trouve vers l'aval, est un thrombus blanc, la « queue » étant formée par un thrombus rouge.

Le premier (thrombus blanc), sur lequel se concentre tout l'intérêt, est formé d'une « substance finement granuleuse résultant de la confluence d'innombrables plaquettes » et traversée par quelques filaments de fibrine, qui ne participe du reste que très peu à son édification. Le thrombus blanc résulte, en réalité, de deux phénomènes :

1° L'agglutination des plaquettes sanguines en amas de plus en plus volumineux ;

2° La métamorphose visqueuse subséquente de ces plaquettes, au cours de laquelle celles-ci perdent leurs limites respectives et se transforment en une « masse homogène, un syncytium granuleux et compact » (1).

Le thrombus rouge, qui fait suite au thrombus blanc, possède la structure d'un caillot ordinaire, formé essentiellement d'un réseau fibrineux englobant les diverses cellules sanguines.

Telle est la manière de voir de la plupart des auteurs qui ont étudié cette question.

Discutant les diverses explications proposées de la genèse des thrombi dits spontanés, P. Govaerts rappelle notamment qu'Achard et Aynaud [10] ont établi depuis longtemps que l'introduction dans le sang de peptone, de produits colloïdaux variés ou de suspensions fines de nature inerte, provoque l'agglutination des plaquettes entre elles et leur disparition momentanée du sang.

De même Levaditi [11], Aynaud [12], Delrez et Govaerts [13] ont décrit la part importante des plaquettes dans l'éloignement du torrent sanguin, des germes microbiens qui y sont introduits, lorsqu'ils sont de virulence modérée. Presque immédiatement après leur pénétration dans le sang, ces germes adhèrent

(1) Le terme de métamorphose visqueuse » est dû à Eberth et Schimmelbusch [8], qui l'ont appliqué à la transformation subie *in vitro* par les plaquettes au contact du sérum frais, déjà observée par Hayem [9] et que A. Wright et G. R. Minot [6] attribuent à l'action, en présence de calcium, d'une substance paraissant être le sérozyme.

aux plaquettes, les amas mixtes ainsi formés disparaissent très rapidement du sang.

Dans l'un comme dans l'autre cas, qu'il s'agisse de l'introduction de particules inertes ou d'éléments microbiens vivants, leur adhésion aux plaquettes, aboutissant à la formation d'amas mixtes, semble liée à l'intervention préalable, mais immédiate, du pouvoir opsonique du milieu sanguin (Govaerts) [14].

D'autre part, Starlinger et Samentnik [15] ont montré que, dans un bon nombre des circonstances pathologiques dans lesquelles peuvent se produire des thrombi spontanés, l'agglutination des plaquettes est notablement influencée par diverses modifications sanguines observées au cours de ces états morbides. Pour eux, l'augmentation dans le plasma des protéines à faible charge électrique négative (globulines, fibrogène), que l'on observe dans ces conditions, abaisse la charge électrique des hémotoblastes, ce qui augmente leur agglutinabilité, tandis que leurs contacts mutuels sont facilités par l'accroissement concomitant du nombre de ces cellules dans le sang circulant.

Ajoutons que l'on peut en outre concevoir que la formation habituelle du thrombus spontané dans certains districts veineux (veine fémorale, iliaque, etc.) y soit facilitée par le ralentissement circulatoire qui peut s'y réaliser. P. Govaerts [16] a d'ailleurs réussi à provoquer l'apparition de thrombi d'apparence spontanée, sans que des modifications pathologiques de la paroi vasculaire soient décelables, en injectant, après une intervention aseptique chez l'animal, une émulsion de staphylocoques dans les veines et en provoquant par une ligature incomplète un ralentissement de la circulation dans un segment veineux. Dans un certain nombre d'essais du moins, des « thrombi spontanés » apparurent au niveau de la stase incomplète du sang, et, dans certains d'entre eux, le staphylocoque put être mis en évidence.

Les recherches personnelles que nous avons décrites plus haut nous paraissent de nature à étayer l'opinion d'après laquelle le thrombus dit spontané est, sinon toujours, du moins peut être la conséquence d'une action microbienne.

Si les faits décrits antérieurement par Levaditi; Aynaud, par Delrez et Govaerts nous permettent de concevoir l'enrobement par les plaquettes de microbes pénétrés dans la circulation,

presque aussitôt après cette intrusion, ils n'établissent pas que ces agglomérats augmentent progressivement de volume, de manière à devenir, dans certains cas, les « thrombi spontanés » observés au cours des suites opératoires.

D'autre part, si la conception de Starlinger et Samentnik fait jouer, vraisemblablement avec raison, un rôle important dans l'agglomération des plaquettes en thrombus, aux modifications du milieu sanguin survenant lors des états pathologiques où apparaissent les thrombi spontanés, elle ne nous paraît pas tenir suffisamment compte du fait que l'agglutination des plaquettes n'est que la première étape de la formation du thrombus, et qu'elle est suivie d'un second stade, la métamorphose visqueuse des plaquettes, que les expériences de ces auteurs ne paraissent pas avoir reproduite.

Étant donnée l'action exercée sur les hémato blastes par les sécrétions staphylococciques (leur agglutination par la staphylocoagulase, leur lyse par la staphylotoxine) nous croyons possible d'admettre qu'un certain nombre de thrombi post-opératoires sont dus en réalité, comme le prétendent certains auteurs (P. Govaerts, etc.), à l'intervention de germes staphylococciques et à l'action des substances qu'ils produisent. Enrobé par les premières plaquettes adhérant à sa surface dès sa pénétration dans le sang, le staphylocoque, sécrétant sa coagulase, peut provoquer l'agglomération progressive d'un nombre de plus en plus grand de plaquettes. Produisant de même la toxine susceptible de lyser les éléments cellulaires qui l'avoisinent, il suscite en outre la métamorphose visqueuse des plaquettes agglomérées et la formation de la masse qui constitue le thrombus spontané. Ces phénomènes se dérouleront d'autant plus aisément, cela se conçoit, que la circulation sanguine est plus ralentie dans le vaisseau où se forme le thrombus initial.

Les faits que nous avons décrits ne prouvent évidemment pas que les thrombi spontanés relèvent toujours de l'intervention du staphylocoque. A plus forte raison ne permettent-ils pas de conclure qu'aucune autre espèce microbienne n'est capable de constituer la cause initiale de la formation de ces thrombi.

La preuve de l'intervention des germes microbiens ne peut

en réalité découler que de travaux cherchant à isoler ces germes de thrombi spontanés post-opératoires.

Mais nous pensons avoir montré que les sécrétions staphylococciques paraissent capables de provoquer les amas de plaquettes qui constituent les thrombi dits spontanés et de faire subir à ces cellules la dégénérescence dite visqueuse que l'on observe dans ces thrombi. Cette conclusion nous paraît être un argument favorable à la conception de l'origine infectieuse de ces derniers.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] GENGOU. *Ces Annales*, **51**, 1933, p. 14.
- [2] GROSS. *Centr. f. Bakt.*, Orig. 1, **122**, 1931, p. 35: **123**, p. 212; *Zeitschr. f. Imm.*, **73**, 1931, p. 14.
- [3] NOLF. *Traité du sang*, **1**, 1932, p. 53 et 54.
- [4] GENGOU. *Arch. intern. de Médec. expérimentale*, **4**, 1930, p. 633.
- [5] J. ROSKAM. *Arch. intern. de Physiol.*, **20**, fasc. 5.
- [6] H. WRIGHT et G. MINOT. *Journ. of exper. Medic.*, **26**, 1917, p. 395.
- [7] P. GOVAERTS, Causes et mécanisme de l'embolie post-opératoire. *Congrès de la Soc. intern. de Chirurgie*, à Varsovie, 1929.
- [8] EBERTH et SCHIMMELBUSCH. *Virchow's Archiv*, **103**, 1886, p. 39.
- [9] HAYEM. *Arch. de Physiol. norm. et pathol.*, **5**, 1878, sér. 2.
- [10] ACHARD et AYNAUD. *C. R. Soc. Biol.*, **45**, 1908, p. 554.
- [11] LEVADITI. *Ces Annales*, **15**, p. 894.
- [12] AYNAUD. *C. R. Soc. Biol.*, **70**, p. 54.
- [13] DELREZ et GOVAERTS. *C. R. Soc. Biol.*, **31**, 1918, p. 53.
- [14] P. GOVAERTS. *C. R. Soc. Biol.*, **83**, 1920, p. 197.
- [15] STARLINGER et SAMENTNICK. *Klin. Wochenschr.*, **6**, 1927, p. 1269.
- [16] P. GOVAERTS. *Ann. de la Soc. des Sc. Médic. et natur. de Bruxelles*, 1929, p. 210.

RECHERCHES SUR LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SERUM

(NEUVIÈME MÉMOIRE)

ÉQUILIBRES IONIQUES EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE : LE pH

par P. LECOMTE DU NOÛY et V. HAMON.

Nous avons montré, dans les huit mémoires précédents (1), que le phénomène, si important en immunologie, de la destruction du complément par la chaleur, était caractérisé, au point de vue physico-chimique, par neuf phénomènes physiques distincts. L'étude critique de ces phénomènes nouveaux nous a conduits à corriger dans une certaine mesure les conceptions classiques sur la nature de la dispersion des protéines ou des complexes protéido-lipidiques du sérum, et à admettre la dispersion moléculaire, qui n'est même pas modifiée par la chaleur jusqu'à 66°. L'aspect laiteux, opalin, « colloïdal », du sérum chauffé est dû à l'hydratation des protéines, à l'accroissement considérable de leur volume, mais non à leur aggrégation sous forme de micelles. Ce fait a été confirmé par Boutaric (2).

Il nous a semblé intéressant d'essayer de nous rendre compte si les phénomènes que nous avons signalés jusqu'à présent n'étaient pas accompagnés d'une modification dans la concentration des ions hydrogènes. Cette idée semblait d'autant plus plausible que le pouvoir rotatoire augmente à partir de 54° (3) et qu'il se produit, quand on dilue le sérum, des phénomènes que l'on peut rattacher à l'équilibre ionique du système, entre autres des variations dans la vitesse de sédimentation des globulines (4).

(1) P. LECOMTE DU NOÛY. *Ces Annales*, **42**, 1928, p. 742; **43**, 1929, p. 749; **44**, 1930, p. 109; **45**, 1930, p. 251; **48**, 1932, p. 187; P. et M. LECOMTE DU NOÛY. *Ces Annales*, **49**, 1932, p. 762. P. LECOMTE DU NOÛY. *Ces Annales*, **50**, 1933, p. 127. F. SEELICH. *Ces Annales*, **52**, 1934, p. 540.

(2) A. BOUTARIC. *Bull. Soc. Chim.*, **49**, 1931, p. 389.

(3) P. LECOMTE DU NOÛY. *Ces Annales*, **43**, 1929, p. 749.

(4) P. LECOMTE DU NOÛY. *Ces Annales*, **48**, 1932, p. 187.

TRAVAUX ANTÉRIEURS. — Plusieurs auteurs, depuis 1907, se sont proposés d'étudier les changements dans la concentration des ions hydrogènes au cours de l'inactivation du sérum. Malheureusement, ils ne sont pas d'accord, et l'absence de détails techniques dans leurs mémoires ne permet pas dans tous les cas de s'assurer de la source des erreurs. Il est cependant probable que tous ceux qui ont constaté une alcalinisation ont négligé d'empêcher la fuite de CO_2 , ou l'ont fait d'une manière insuffisante. Lieberman (1), par exemple (1907), observe une forte augmentation d'ions hydroxyles après un chauffage de trente minutes du sérum de cheval à 56° , pH 8,40 au lieu de 7,7. De même Tangl, qu'il cite, et Seligmann [1908] (2), dont la méthode laisse grandement à désirer (colorimétrique). Ces auteurs ne donnent pas d'indications sur la façon dont ils ont chauffé le sérum.

Au contraire, en 1909, Michaelis et Rona (3) ont chauffé du sérum pendant trente minutes à 56° et à 100° et ils n'ont pas trouvé de différences dans la concentration en ions hydrogène supérieures aux erreurs d'expérience. La conclusion de ces excellents opérateurs, qui ont pris toutes les précautions nécessaires, est qu'il ne semble pas y avoir de changement de pH au cours de la dénaturation, soit par coagulation, soit d'une autre façon. Ils en concluent encore que la coagulation par la chaleur ne peut pas être liée à une scission de la molécule de protéine qui mettrait en liberté des groupements acides ou basiques comme cela se produit sous l'influence de la trypsine : nous avons montré de notre côté, par une méthode différente, qu'il ne se produisait pas d'aggrégation au cours du chauffage (4) et qu'il ne pouvait se produire de scission, le nombre de molécules restant constant par unité de volume. Nos expériences recourent donc celles de Michaelis et Rona. Dans le même mémoire, ils ont déterminé le pouvoir tampon du sérum et ils ont trouvé qu'il est mieux tamponné vis-à-vis des acides que des bases, ce que nous avons confirmé.

Davidsohn [1910] (5) a étudié la réaction du sérum chauffé à

(1) L. et P. LIEBERMAN. *Arch. für Hygiene*, 62, 1907, p. 315.

(2) E. SELIGMANN. *Biochem. Zeitsch.*, 10, 1908, p. 430.

(3) L. MICHAELIS et P. RONA. *Biochem. Zeitsch.*, 18, 1909, p. 317.

(4) LEGOMTE DU NOUY. *Ces Annales*, 45, 1930, p. 251.

(5) H. DAVIDSOHN. *Zeitsch. für Immunitätsforschung*, 5, 1910, p. 482.

55°, 65°, 75° et 100°. Pour empêcher la coagulation, il diluait le sérum de cinq à sept fois au moyen de $\text{NaCl } \frac{\text{N}}{8}$. Le chauffage était effectué en vase clos. Il trouve également que les différences entre le pH du sérum non chauffé et chauffé entre 55° et 100° pendant trente minutes, sont de l'ordre de grandeur des erreurs d'expériences.

Sörensen et Jurgensen [1911-1913] (1) arrivent à la conclusion que la coagulation totale des protéines du sérum par chauffage donne toujours lieu à une diminution de la concentration du milieu en ions hydrogènes. Mais ces auteurs ont préalablement déterminé le *pH* optimum pour la coagulation, soit *pH* 4,70 environ, et ont travaillé sur du sérum acidifié à *pH* 4,70.

Enfin, Hugo Hecht [1923] (2), sans donner ni technique, ni chiffres expérimentaux, déclare que l'inactivation du sérum par la chaleur augmente son alcalinité.

On voit donc que la question, bien qu'ayant été étudiée, n'a pas été résolue de façon satisfaisante.

Ces recherches devant entraîner un nombre considérable de déterminations du *pH*, nous avons commencé par expérimenter successivement la plupart des méthodes courantes pour lesquelles un appareillage existe dans le commerce. Nous avons été forcés de les éliminer les unes après les autres car bien qu'elles fussent toutes bonnes en soi, aucune d'elles ne réunissait toutes les qualités que nous exigeons, à savoir : précision maxima, fidélité, rapidité et facilité d'emploi. De plus, nous ne disposions que de petites quantités de liquide. Nous avons donc été amenés à créer un appareillage nouveau et une technique précise qui nous ont donné toute satisfaction. Les mesures, à une unité près de la seconde décimale, s'obtiennent avec 1/2 cent. cube de liquide en cinq et six minutes. Le contrôle de la température est obtenu par circulation d'eau ; la quantité d'hydrogène nécessaire se réduit à quelques bulles. Cet appareil ayant été décrit ailleurs (3), nous nous bornerons à en rappeler le principe et à exposer la technique que nous avons suivie.

(1) S. P. L. SÖRENSEN et E. JURGENSEN. *C. R. des Travaux du Laboratoire de Carlsberg*, 10, 1911-1913, p. 1.

(2) H. HECHT. *Zeitsch. für Immunitätsforschung*, 36, 1923, p. 321.

(3) P. Lecomte du Nouv. *C. R. Acad. Sc.*, 193, 1931, p. 1417 ; *Science*, vol. LXXV, 1932, p. 643.

TECHNIQUE.

L'appareil, qui comporte une électrode à volume constant d'hydrogène, se compose essentiellement d'un disque en platine platiné à demi-immérgé dans la solution dont il s'agit de mesurer le pH , et dont la partie émergée baigne dans l'hydrogène maintenu au-dessus du liquide en vase clos. Le disque étant soumis à une rotation autour de son centre, la partie immergée passe dans l'hydrogène, et la partie émergée dans le liquide. Quand il tourne à 200 ou 300 tours par minute, on comprend qu'une certaine quantité de solution soit entraînée en une couche mince adhérente au platine. Cette couche, intermédiaire entre l'hydrogène gazeux et l'hydrogène atomique du noir de platine est rapidement saturée. Avec une électrode fraîchement platinée, on obtient, en trois minutes, une valeur qui n'est pas inférieure de plus de 0,02 pH de la valeur définitive, généralement atteinte en cinq ou sept minutes et correcte à 0,01 pH près pour le sérum ou le plasma sanguin. Lorsque les mesures portent sur des solutions tamponnées non protéiniques, on peut aisément les répéter à 0,001 pH près. Mais dans le cas du plasma ou du sérum, une telle précision est illusoire et l'on ne peut compter que sur une précision de $\pm 0,01$, au maximum (1). On verra cependant plus loin que l'on peut tenir compte de la troisième décimale pour les valeurs relatives.

RÉCOLTE ET CONSERVATION DU SÉRUM. — On sait que la mesure du pH du plasma, et en général de toutes les solutions carbo-

(1) Il n'est pas inutile de rappeler que la mesure de ce qu'on désigne couramment sous le nom d'indice logarithmique de Sørensen, le pH , consiste à proprement parler, en une mesure d'activité; elle ne donne théoriquement qu'une valeur approchée de la concentration réelle en ions H^+ . Cette dernière grandeur ne peut être précisée davantage dans l'état actuel de nos connaissances, car si l'on peut comparer facilement l'activité d'un électrolyte en solution pure, le problème devient beaucoup plus difficile à résoudre quand il s'agit de l'activité de chaque ion, en particulier dans une solution contenant plusieurs électrolytes. Il paraît raisonnable de penser que, dans le cas de concentrations aussi faibles que celles des ions H^+ des liquides de l'organisme (10^{-5} à $10^{-8} n$), l'« activité » et la « concentration » sont près de se confondre. Ceci comporte toutefois une réserve en raison de la composition très complexe des milieux protéiques de l'organisme. Il faut faire, d'autre part, la même réserve pour les mesures du pH des solutions dont la concen-

natées, dépend de la tension de CO_2 au-dessus de la solution, tension qui conditionne l'équilibre CO_2 — carbonates dans la solution. En moyenne, la pression partielle de gaz CO_2 dans le sang est de 40 millimètres de mercure. Cette pression est d'ailleurs variable. C'est pourquoi il est nécessaire d'effectuer les mesures en maintenant la solution ou le sérum au contact d'un volume constant d'hydrogène contenant du gaz CO_2 sous la même pression partielle que dans l'échantillon du liquide étudié. Dans ces conditions, la perte de CO_2 , qui modifierait profondément la valeur du pH , ne peut se produire.

Pour cette raison, il est essentiel, quand on veut mesurer le pH d'un plasma dans le but de connaître le plus exactement possible le pH du sang circulant (qui n'est pas sensiblement modifié par la présence des éléments figurés), de récolter le sang sous huile de vaseline neutre, de boucher le tube à centrifuger par de la paraffine fondue (à 50°) et coulée au-dessus de l'huile de vaseline et de puiser le plasma — ou le sérum — avec une seringue au-dessous de la couche protectrice. Faute de prendre ces précautions, la perte de CO_2 détermine une alcalinisation rapide du liquide.

D'autre part, étant donné que, pour les réactions immunologiques, le sérum est manipulé à l'air libre, et que les phénomènes corrélatifs de la destruction de l'alexine (accroissement de viscosité, du pouvoir rotatoire, de la résistivité électrique, de la lumière diffusée, etc.) ont été observés sans qu'on prit de précautions spéciales, nous nous sommes placés, pour certaines expériences rapportées ci-après, dans les mêmes conditions, c'est-à-dire sans maintenir le sérum sous huile.

CHAUFFAGE DU SÉRUM. — Le chauffage fut toujours effectué en ampoules scellées à la lampe, dans les conditions où nous nous sommes placés pour les recherches précédentes, et, pour cer-

tration saline est élevée. A des concentrations salines égales ou inférieures à 0,15*n*, c'est-à-dire égales ou inférieures à celles du milieu intérieur de l'organisme, l'activité et la concentration des ions H^+ ne dénotent pas de différences supérieures à pH à 0,01 à 0,02 (Kolthoff, 1925). L'ordre de grandeur de pareils écarts du pH est la limite de sensibilité des méthodes de mesure du pH . (Bigwood. *Méthode de détermination du pH des liquides de l'organisme*, Paris, Masson, 1927.) La méthode que nous employons a une sensibilité bien supérieure, comme nous l'avons montré. (Lecomte du Noüy et Hamon. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 46, 1934, p. 177.)

taines expériences, en s'efforçant de réduire au minimum l'espace libre au-dessus du liquide. Après chauffage, les ampoules étaient refroidies afin de permettre au CO_2 dégagé pendant le chauffage de se redissoudre dans le sérum; elles n'étaient ouvertes qu'au moment même de la mesure.

Nous avons employé pour effectuer le chauffage un thermostat spécial à eau dont la température était maintenue à mieux que $0^{\circ}5$ près pour des chauffages prolongés et à $2/10$ de degré près pour les chauffages de dix minutes.

REPLISSAGE DE L'ÉLECTRODE. SATURATION. — Toutes les mesures furent effectuées sur 0 c. c. 4 de liquide, avec 0 c. c. 15 à 0 c. c. 20 d'hydrogène lavé par barbotage dans une solution de pyrogallol à 5 p. 100 alcalinisée par la potasse. Pour obtenir des bulles très petites, l'hydrogène était forcé sous pression à travers la pastille de quartz d'un entonnoir en verre d'Iéna contenant la solution. Les bulles ainsi obtenues sont minuscules et le lavage efficace. La seringue était toujours préalablement rincée avec quelques gouttes du sérum à étudier, et l'hydrogène saturé de CO_2 dans la seringue par rotation au contact de deux échantillons successifs du sérum étudié, tous deux éliminés et remplacés par l'échantillon définitif. La tension de CO_2 dans l'hydrogène était donc déterminée par la tension de CO_2 dans le sérum en expérience (1).

TEMPÉRATURE. — L'appareil (l'onomètre) comportant une circulation d'eau, toutes les mesures furent effectuées à température constante à $0^{\circ}5$ près. Cette température est toujours mentionnée à chaque expérience.

MESURE ÉLECTRIQUE DE LA DIFFÉRENCE DE POTENTIEL. — Nous avons employé exclusivement, comme demi-élément positif par rapport à l'électrode d'hydrogène, l'électrode au calomel à KCl saturé. Comme potentiomètre, nous nous servons du grand modèle type K, de Leeds et Northrup, sensible au $1/100$ de millivolt, accouplé au galvanomètre à miroir de la même maison. Mais nous avons surtout employé un potentiomètre

(1) Voir LECOMTE DU NOUY et V. HAMON. *Bull. Soc. chim. Biol.*, 16, n° 2, 1934, p. 177, pour tous les détails de la technique.

automatique enregistreur de Leeds et Northrup, que la Maison M. E. C. I. de Paris, a spécialement établi pour nous et muni de 33 sensibilités qui nous permettent de couvrir à peu près toute l'échelle des pH avec possibilité de faire des lectures à environ 1/10 de millivolt près, soit grossièrement à 2/1.000 près. Ses valeurs étaient d'ailleurs contrôlées fréquemment au moyen du potentiomètre étalon type K, pendant les mesures.

L'avantage considérable de l'appareillage constitué par l'électrode rotative et le potentiomètre enregistreur, consiste dans l'élimination complète du coefficient individuel dans les mesures et dans la possibilité de conserver les graphiques directs de toutes les expériences.

Dans ces conditions, nous avons obtenu les résultats suivants :

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

PREMIER GROUPE D'EXPÉRIENCES. — Nous avons d'abord traité le sérum sans aucune précaution spéciale, c'est-à-dire manipulé à l'air libre et chauffé dans des ampoules scellées. L'espace libre au-dessus du liquide étant légèrement différent d'une ampoule à l'autre.

EXPÉRIENCE n° 1. — Sérum de cheval normal. Température de la mesure 20°. Mesures au potentiomètre enregistreur, contrôlées par le potentiel étalon concordantes à $\pm 0,000.03$ volts près (1).

ÉLECTRODE	pH				
	20°	50°	55°	60°	65°
N° 1	7,920	»	»	7,940	»
N° 2	7,906	»	»	»	7,963
N° 3	7,906	7,933	»	»	»
N° 4	7,920	»	7,935	»	»

Dans cette expérience, nous constatons un accroissement de la valeur du pH , c'est-à-dire une alcalinisation comme l'avaient vu un certain nombre d'auteurs (Lieberman, Tangl, Seligman, Hecht).

(1) On remarquera que nous avons exprimé les pH avec 3 décimales, malgré les réserves faites plus haut. Il ne faut considérer la troisième décimale que comme indicatrice d'excès ou de défaut, et non comme ayant une valeur absolue. Cependant, dans le troisième groupe d'expériences, on verra que la précision dépasse la seconde décimale, et que l'on peut en tenir compte en tant que valeurs relatives.

EXPÉRIENCE n° 2. — Sérum de cheval normal. Température de la mesure 20°. temps de chauffage : dix minutes.

ELECTRODE N° 1		ÉLECTRODE N° 2	
température en degrés	pH	température en degrés	pH
20.	7,920	20.	7,874
45.	8,000	60.	7,959
50.	7,988	65.	7,976
55.	7,993	67.	7,973

Dans cette expérience, l'alcalinisation est beaucoup moins nette. Le phénomène n'est pas progressif. On se rend compte qu'il doit y avoir un facteur perturbateur indépendant de la mesure elle-même.

EXPÉRIENCE n° 3. — Sérum de coq. Température de la mesure : 20°. Chauffé dix minutes.

ELECTRODE N° 2		ÉLECTRODE N° 3	
température en degrés	pH	température en degrés	pH
20.	7,647	20.	7,785
55.	7,865	40.	7,865
60.	7,870	45.	7,755
65.	7,850	50.	7,806
68.	7,885		

Cette expérience est franchement mauvaise. Si l'on constate une alcalinisation finale, on constate aussi des fluctuations inexplicables.

EXPÉRIENCE n° 11. — Sérum de cheval normal. Manipulé à l'air libre comme précédemment, mais l'espace libre au-dessus du liquide dans les tubes scellés a été réduit considérablement et ne dépasse pas 0 c. c. 2, avec de légères variations d'une ampoule à l'autre.

ÉLECTRODE N° 1		ÉLECTRODE N° 3		ÉLECTRODE N° 4	
température en degrés	pH	température en degrés	pH	température en degrés	pH
20. . .	7,700	20. . . .	7,600	20. . .	7,690
45. . .	7,690	64. . . .	7,690	55. . .	7,700
50. . .	7,690	66. . . .	7,782		
60. . .	7,660				

Il est inutile de publier les résultats des 12 séries de mesures effectuées, car l'on voit immédiatement par cette dernière série que : 1° les fluctuations sont devenues beaucoup moins importantes et que 2° la tendance à l'alcalinisation est presque supprimée (électrode n° 4) et même remplacée par une faible indication contraire (électrode 1 et 3). Cette indication suffit à faire penser que les irrégularités des mesures précédentes et peut-être même l'alcalinisation, étaient dues à la perte de CO_2 , variable suivant les dimensions de l'espace libre au-dessus du sérum dans les ampoules. On entreprit donc une nouvelle série d'expériences destinées à confirmer ou à infirmer cette opinion.

DEUXIÈME GROUPE D'EXPÉRIENCES. — Dans ce groupe, le sérum était manipulé à l'air libre, mais en tubes scellés ne présentant pas ou peu d'espace libre au-dessus du liquide. Il nous suffira de citer une seule série d'expériences effectuées d'ailleurs au moyen de 4 électrodes différentes, ce qui constitue en somme 4 expériences.

EXPÉRIENCE n° 14. — Sérum de cheval normal. Mesures à 20°.

ÉLECTRODE N° 1		ÉLECTRODE N° 2	
température en degrés	pH	température en degrés	pH
20.	7,782	20.	7,787
45.	7,805	50.	7,803
		55.	7,795
ÉLECTRODE N° 3		ÉLECTRODE N° 4	
température en degrés	pH	température en degrés	pH
20.	7,782	20.	7,798
60.	7,790	63.	7,765
		66.	7,795

Ces expériences montrent nettement :

1° Que si l'espace libre est réduit au minimum, les fluctuations sont nettement diminuées, les écarts entre les valeurs à 20° sont faibles (les trois premières électrodes donnent des valeurs coïncidant à 5/1.000 près, la quatrième seule présentant un écart de 16/1.000) et 2° qu'il est impossible de conclure

à une alcalinisation ou à une acidification, les différences étant trop petites ou n'étant pas constantes.

Ce qui précède explique la discordance des résultats publiés par d'autres auteurs, et impose de se placer dans des conditions plus rigoureuses en ce qui concerne la manipulation du sérum, avant la mesure. Nous avons donc effectué un troisième groupe d'expériences en manipulant le sérum sous huile de vaseline neutre, sans contact avec l'air, et en scellant les ampoules sans espace libre. Les mesures furent effectuées avec du sérum de cheval (Exp. 15 à 31, et 49 à 55), de bœuf (Exp. 42 et 45) et de mouton (Exp. 41 et 44).

EXPÉRIENCE n° 15 :

ÉLECTRODE	pH					
	20°	45°	50°	55°	60°	63°
N° 1	7,693	7,702	7,697	»	7,650	»
N° 2	7,693	»	»	»	»	»
N° 3	7,700	»	»	»	»	7,671
N° 4	7,702	»	»	7,693	»	»

On remarque que les valeurs à 20° coïncident à $\pm 0,004$ près pour les 4 électrodes, ce qui est beaucoup plus satisfaisant et permet, au besoin, d'interchanger les électrodes puisque les valeurs absolues du point de départ ne sont pas supérieures à la valeur admise des erreurs d'expérience.

Mais on remarque surtout la constance du pH pour toutes les températures sauf 60°, température à laquelle la différence atteint 0,045 pH, *vers l'acidité*. On retrouvera ce phénomène dans toutes les séries suivantes, avec parfois un abaissement progressif à partir de 54°.

EXPÉRIENCE n° 17 :

ÉLECTRODE	pH						
	20°	45°	50°	58°	60°	62°	64°
N° 1	7,815	7,805	»	»	»	7,760	»
N° 2	7,833	»	7,822	»	7,790	»	»
N° 3	7,815	»	»	7,795	»	»	7,790
N° 4	7,833	»	»	»	»	»	»

Dans cette expérience, les écarts entre les valeurs initiales sont dus, non à l'électrode d'hydrogène, mais aux électrodes au calomel. Correction faite, la différence est réduite à 0,008 pH.

EXPÉRIENCE n° 20. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH						
	20°	45°	50°	58°	60°	62°	64°
N° 1	7,730	»	7,720	»	»	»	»
N° 2	7,730	7,725	»	»	»	»	»
N° 3	7,730	»	»	7,705	7,700	»	»
N° 4	7,730	»	»	»	»	7,685	7,785

EXPÉRIENCE n° 23. — Sérum de cheval. Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH						
	20°	50°	55°	60°	62°	63°	64°
N° 1	7,810	»	»	7,757	7,782	»	7,773
N° 2	7,820	7,810	7,820	»	7,783	»	»
N° 3	7,810	7,805	7,800	»	»	7,770	»

EXPÉRIENCE n° 26. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH							
	20°	53°	55°	57°	59°	61°	63°	65°
N° 1	7,837	7,618	7,608	»	7,564	»	»	»
N° 2	7,637	»	»	7,590	7,564	»	7,583	»
N° 3	7,634	»	7,608	»	»	7,574	»	7,605

EXPÉRIENCE n° 27. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH							
	20°	54°	56°	58°	60°	61°	62°	64°
N° 2	7,613	»	»	»	»	7,566	7,545	»
N° 3	7,615	7,605	7,598	»	»	»	»	7,575
N° 4	7,615	»	»	6,575	7,566	»	»	»

EXPÉRIENCE n° 49. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH									
	20°	54°	56°	58°	59°	60°	62°	64°	66°	
N° 1 . .	7,730	»	7,702	»	»	7,692	»	»	»	
N° 2 . .	7,725	7,725	7,718	»	»	»	7,682	»	»	
N° 3 . .	7,730	»	»	7,696	7,692	»	»	7,673	»	
N° 4 . .	7,730	»	»	»	7,685	»	»	»	7,677	

EXPÉRIENCE n° 55. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH						
	20°	55°	57°	59°	61°	63°	65°
N° 1 . . .	7,543	»	»	7,480	»	»	7,475
N° 2 . . .	7,536	7,523	»	»	»	»	»
N° 4 . . .	7,540	»	7,523	»	7,463	7,445	»

On voit par ces deux séries d'expériences qu'il arrive parfois que la diminution dans la valeur du pH commence plus tôt, à 55° et à 56°. Le fait est peu fréquent. On voit aussi que le minimum peut être déplacé jusqu'à 63° ou 64°. Néanmoins, dans la grande majorité des cas, la valeur minima est atteinte avant 62°.

EXPÉRIENCE n° 42. — Sérum de bœuf (abattoirs). Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH							
	20°	54°	56°	58°	60°	62°	64°	66°
N° 1 . .	7,620	»	7,617	»	7,592	»	7,550	»
N° 2 . .	7,615	»	»	7,598	»	»	»	7,568
N° 3 . .	7,598	7,620	»	»	»	7,550	»	»
N° 4 . .	7,605	»	7,600	»	»	»	7,562	»

EXPÉRIENCE n° 44. — Sérum de mouton (abattoirs). Chauffé dix minutes.

ÉLECTRODE	pH							
	20°	56°	58°	60°	62°	64°	66°	68°
N° 1 . . .	7,825	7,815	»	»	7,770	»	»	»
N° 2 . . .	7,832	7,825	»	»	»	»	7,748	7,742
N° 3 . . .	7,832	»	7,810	»	»	7,748	»	»
N° 4 . . .	7,837	»	»	7,785	»	»	»	7,733

Ces exemples suffisent pour montrer que : 1° en manipulant le sérum à l'abri de l'air sous huile de paraffine, on obtient avec différents échantillons du même sérum et différentes électrodes des valeurs concordant à mieux que 1/100 près ; 2° qu'il se produit, par chauffage de dix minutes seulement un minimum du pH, donc une acidité, généralement entre 59° et 62°, et que cette acidification faible a une valeur moyenne de l'ordre de 0,05 pH (les extrêmes étant 0,03 et 0,07) de beaucoup supérieure aux erreurs possibles d'expériences. Cette acidité

correspond à peu près à une augmentation moyenne de 13 p. 100 de la concentration des ions hydrogènes; et 3° que ce minimum est souvent suivi d'une augmentation du pH , aux températures voisines de celle de la coagulation (66°).

Le sérum de bœuf et le sérum de mouton fournissent des résultats semblables.

INFLUENCE DU TEMPS DE CHAUFFAGE. — Le temps de chauffage ne paraît pas jouer un rôle, pas plus que pour les autres phénomènes physiques précédemment décrits. Tout au plus, avec un chauffage d'une heure, avons-nous observé le minimum à 58°, c'est-à-dire un peu plus tôt. Mais l'amplitude n'avait pas varié.

EXPÉRIENCE n° 39. — Sérum de cheval normal. Chauffé pendant une heure.

ÉLECTRODE	pH					
	20°	52°	56°	58°	60°	coag. à 62°
N° 1 . . .	7,513	7,502	»	»	»	»
N° 3 . . .	7,513	»	7,475	7,442	7,471	»
N° 4 . . .	7,513	»	»	7,451	»	»

Le phénomène décrit ci-dessus, c'est-à-dire l'acidification légère du sérum chauffé entre 58° et 62° est affecté par la valeur du pH originel du sérum. En d'autres termes, si l'on acidifie le sérum *avant chauffage*, même légèrement, à pH 6,80 par exemple, il ne se produit presque plus ou plus d'abaissement du pH après chauffage, comme le montrent les expériences suivantes. Dans certains cas, on constate même une légère alcalinisation.

EXPÉRIENCE P. 94. — Sérum de cheval normal.

Echantillon A, (25 cent. cubes) acidifié par courant de CO_2 pendant huit minutes, puis recouvert d'huile de vaseline. Chauffé dix minutes en tube scellé. Température de la mesure : 20°.

Echantillon B, (témoin) simplement maintenu sous huile neutre, chauffé et mesuré dans les mêmes conditions.

pH			pH		
20°	6,710		20°	7,643	
60°	6,715		60°	7,580	

EXPÉRIENCE P. 109. — Sérum de cheval.

A. Acidifié par courant de CO₂ pendant dix minutes. Chauffage et mesure comme ci-dessus.

B. Témoin.

	pH		pH
20°	6,760	20°	7,667
60°	6,764	60°	7,623
20°	6,748	20°	7,667
60°	6,748	60°	7,615

Afin d'étudier le phénomène sur une plus grande échelle de pH, nous avons acidifié le sérum au moyen d'une solution normale d'acide chlorhydrique, de la façon suivante : à un volume de 9,9; 9,8; 9,7; 9,5 cent. cubes de sérum, on ajoutait 0,1, 0,2, 0,5 cent. cubes de solution HCl/N, pour ramener à 10 cent. cubes. Nous avons ainsi confirmé le fait signalé par Sørensen (*loc. cit.*) qu'un sérum dont le pH a été ramené à 4,78 (9,5 cent. cubes sérum + 0,5 N.HCl.) coagulait à 60°. Nous avons donc été forcés de ne pas acidifier autant. Aux environs de pH 5,4, le sérum ne coagulait plus après chauffage à 60°. Mais nous avons constaté, dans ce cas, que le chauffage déterminait une très légère alcalinisation, au lieu de l'acidification observée sur le sérum normal non acidifié préalablement. En d'autres termes, un sérum chauffé dix minutes à 60°, puis refroidi présente soit une acidification légère, soit une alcalinisation légère (l'une et l'autre de l'ordre de 0,5 pH) suivant que le pH initial du sérum était alcalin ou acide. Vers pH 6,90, les courbes se rencontrent, et il n'y a ni acidification ni alcalinisation, ou tout au moins d'un ordre de grandeur égal aux erreurs d'expérience. (Exp. P. 153).

EXPÉRIENCE P. 153 :

		HCl/N AJOUTÉ pour cent				pH
		1	2	3	4	
Sérum témoin (non chauffé) .	7,49	6,90	6,38	5,98	5,38	}
Sérum chauffé à 60°	7,45	6,90	6,41	7,00	5,43	
Différence en pH	- 0,04	0,00	+ 0,03	+ 0,02	+ 0,05	

Le même phénomène se produit avec le sérum dilué, et l'amplitude des variations est du même ordre. Comme on le voit, le phénomène est petit, mais régulier.

SÉRUM DILUÉ. — Comme il n'est pas possible de suivre l'alcalinisation après 66° à cause de la coagulation, et comme, d'autre part, il était intéressant de savoir si vraiment le minimum du pH à 60° était suivi d'une remontée, nous avons dilué le sérum avec des quantités variables de solution physiologique à 0,9 p. 100 et avec une solution de KCl à 9,525 p. 1.000.

Nous avons constaté, dans ces conditions, une acidification plus marquée, débutant aux environs de 54°, mais nous n'avons pas observé d'une façon régulière de remontée aux températures supérieures à 62°. Le minimum était généralement atteint à une température plus élevée et variable.

EXPÉRIENCE n° 32. — Sérum de cheval dilué à volume égal de KCl isotonique.

ÉLECTRODE	pH				
	20°	54°	60°	68°	70°
N° 2.	7,762	»	7,668	7,623	»
N° 3.	7,762	7,722	»	»	7,595

EXPÉRIENCE n° 33. — Sérum de cheval dilué à volume égal de KCl isotonique.

ÉLECTRODE	pH								
	20°	54°	56°	60°	62°	64°	66°	69°	72°
N° 1. .	7,731	7,720	»	»	7,670	7,655	»	»	»
N° 2. .	7,748	»	7,704	»	»	»	»	»	»
N° 3. .	7,725	»	7,670	»	»	»	7,661	»	7,655
N° 4. .	7,712	»	»	7,683	»	»	»	7,670	»

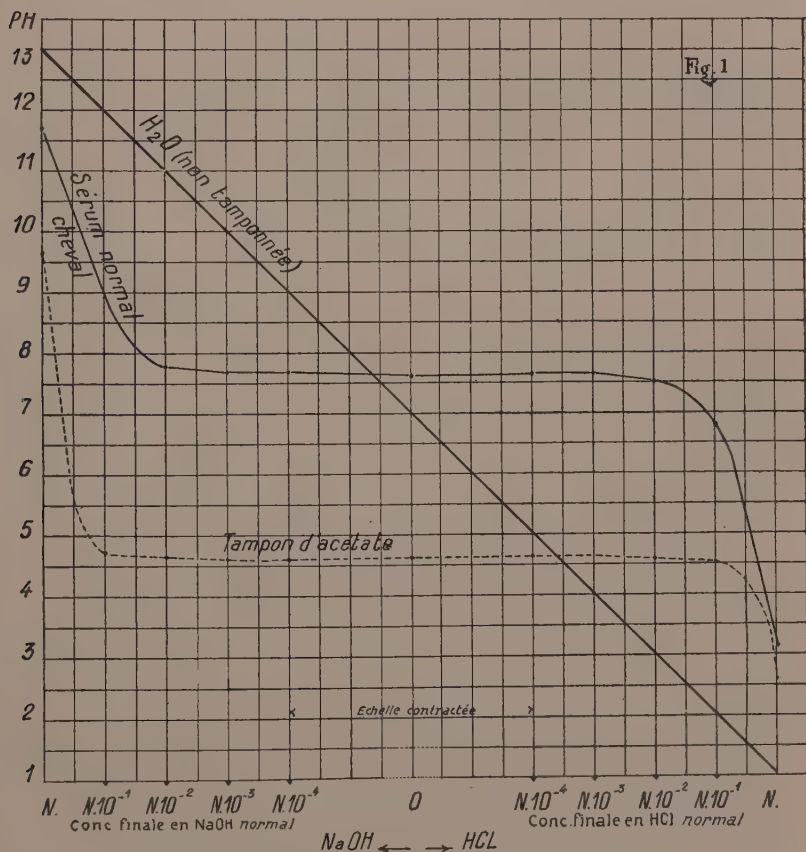
EXPÉRIENCE n° 50. — Sérum de cheval dilué au 1/8 (1 cent. cube sérum + 7 cent. cubes NaCl isotonique).

ÉLECTRODE	pH				
	20°	55°	75°	85°	100°
N° 1.	7,635	»	7,530	»	»
N° 3.	7,635	7,633	»	7,555	7,566

EXPÉRIENCE n° 51. — Sérum de cheval dilué au 1/8 au KCl isotonique.

ÉLECTRODE	pH								
	20°	55°	60°	65°	70°	75°	80°	90°	100°
N° 1. .	7,480	»	7,410	»	7,374	»	»	»	»
N° 2. .	7,515	»	»	»	»	7,410	»	»	»
N° 4. .	7,480	7,465	»	7,325	»	»	7,330	7,330	7,390

En se basant sur ces expériences faites avec le sérum dilué et sur un assez grand nombre d'autres qui donnèrent des résultats



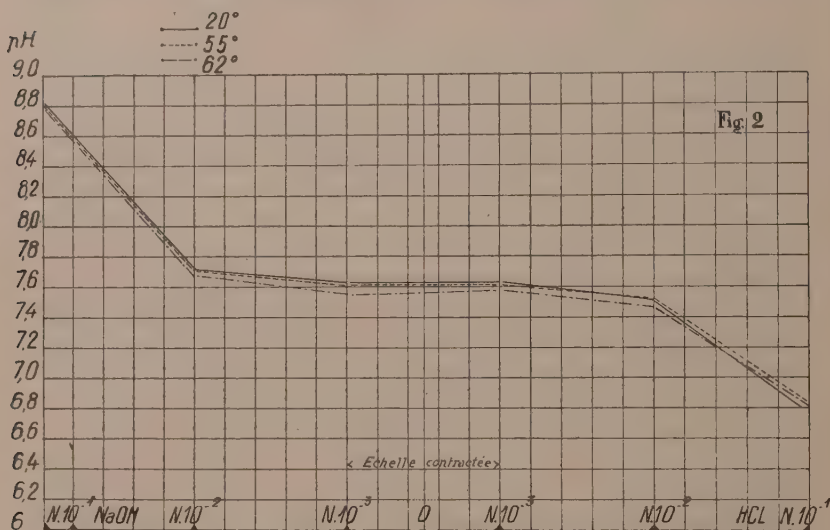
GRAPHIQUE 1. — Pouvoir tampon du sérum de cheval et du mélange tampon d'acétate.

Concentration des solutions NaOH ou HCl ajoutées au sérum.

1 cent. cube solution NaOH ou HCl ajouté à 9 cent. cubes sérum.

analogues, il est impossible de tirer une conclusion au sujet de ce qui se passe dans le sérum pur au-dessus de 62° . Les phénomènes, par suite de la dilution, sont probablement très différents. On peut admettre, par conséquent, que le sérum chauffé aux environs de 60° présente un minimum d'acidité, parfois suivi d'une remontée vers l'alcalinité. L'interprétation de ce fait est très difficile pour le moment.

POUVOIR TAMPON DU SÉRUM. — Nous nous sommes demandés si cette acidification n'était pas corrélatrice d'une diminution



GRAPHIQUE 2. — Pouvoir tampon du sérum non chauffé 20° et chauffé dix minutes à 55° et 62° .
Concentration des solutions NaOH ou HCl ajoutées au sérum.
cent. cube solution NaOH ou HCl ajouté à 9 cent. cubes sérum pur.

du pouvoir tampon du sérum consécutive au chauffage. Nous avons, dans le but de répondre à cette question, effectué des séries de mesures en ajoutant des quantités variables de HCl et de NaOH à des sérums non chauffés et chauffés. Le résultat de ces expériences est exprimé par la figure 2. Sur la figure 1, nous avons indiqué, à côté du pouvoir tampon du sérum chauffé, le pouvoir tampon de la solution de Michaëlis et la diagonale représente les valeurs prises par l'eau (tampon = 0) par addition des mêmes quantités d'acide ou d'alcali. La figure 2

montre bien que le pouvoir tampon du sérum n'est pas modifié par la chaleur. Par contre, on voit clairement l'effet dû au chauffage qui déplace toute la courbe vers l'acidité. On voit également que le sérum est mieux tamponné du côté acide que du côté alcalin.

RÉSUMÉ.

Le sérum sanguin, manipulé avec précautions de façon à limiter la perte de CO_2 au minimum, présente, lorsqu'il est chauffé même pendant dix minutes seulement, un minimum de $p\text{H}$, c'est-à-dire une acidité maxima, vers 60° . Jusqu'à 56° , la valeur du $p\text{H}$ est sensiblement constante, mais on constate souvent le début de l'acidification à partir de cette température.

Ce phénomène est constant, mais de faible amplitude : la valeur *moyenne* de la chute étant de $0,05\ p\text{H}$. Au delà de 60° ou 62° , on constate quelquefois une remontée du $p\text{H}$ (alcalinisation) qui ramène sa valeur au niveau ou même au-dessus de sa valeur primitive. Ces phénomènes ne peuvent être observés qu'à condition d'empêcher toute perte de CO_2 avant, pendant et après le chauffage.

L'alcalinisation trouvée par certains auteurs était donc due à la perte de CO_2 qu'ils ne songeaient pas à éviter. Les auteurs qui conclurent à l'absence de variation par chauffage disposaient d'une technique plus rigoureuse mais d'une méthode de mesure qui n'était, ou pas assez sensible ou pas assez fidèle.

Lorsque le sérum est dilué au moyen de solution isotonique, on observe les mêmes phénomènes. La chute est plus marquée et débute généralement vers 55° pour aboutir progressivement au minimum. Au delà de 60° , les valeurs du $p\text{H}$ oscillent autour de la valeur minima et présentent rarement une tendance vers l'alcalinisation.

Ce phénomène caractérise le sérum normal ayant un $p\text{H}$ compris entre $7,20$ et $7,80$ (à 20°). Si le $p\text{H}$ du sérum est abaissé vers $6,80$ ou $6,90$ avant le chauffage, l'amplitude du phénomène diminue considérablement et tend vers 0. A des valeurs plus grandes de l'acidité (jusqu'à $3,4$ par exemple) le phénomène est inversé et l'on observe une alcalinisation par suite du chauffage à 60° , de même amplitude moyenne que le phénomène précédent, soit $0,5\ p\text{H}$. Les courbes représentant les varia-

tions du pH de deux échantillons du même sérum en fonction des quantités d'acide ajoutées, l'un chauffé à 60° et l'autre non chauffé, se coupent donc vers pH 6,85.

Le chauffage à 62° ne modifie pas le pouvoir tampon du sérum.

Ce phénomène s'ajoute donc à la liste des neuf que nous avons déjà décrits, et qui caractérisent la température critique du sérum et la destruction de l'alexine par la chaleur.

L'IMMUNITÉ DES PLANTES VIS-A-VIS DES MALADIES A VIRUS

par M. J. DUFRÉNOY

(*Station de Pathologie végétale de Bordeaux*).

Introduction.

La rapidité avec laquelle certains virus se généralisent dans une plante après inoculation, sans réaction histologique évidente, donnait *a priori* peu d'espoir d'obtenir, par sélection ou croisement, des plantes résistantes à un virus. Cependant, au cours de ces dernières années, l'étude cytologique des réactions des cellules végétales aux virus, la sélection et la propagation des plantes résistantes à des virus causant des maladies redoutables, les expériences d'exaltation et d'atténuation de virulence des virus par passages dans des hôtes intermédiaires, l'utilisation de plantes ou d'insectes comme filtres pour effectuer l'analyse de ces complexes de virus, enfin les expériences de vaccination par certains virus contre certains autres, ont apporté à l'étude de l'immunologie chez les plantes plus de faits que l'étude des champignons et des bactéries phytopathogènes.

Toute étude des problèmes de l'immunité vis-à-vis des maladies à virus exige que des inoculations expérimentales soient faites dans des plantes neuves (exemptes de virus) avec des virus purs, bien définis.

Ces conditions sont difficiles à satisfaire, car, au moins dans certaines espèces de plantes, de nombreux individus peuvent être contaminés par des virus latents, dont la présence n'est pas décelable par le seul examen des plantes (voir plus loin virus latents) et d'autre part, lorsque les plantes manifestent des symptômes d'infection par maladies à virus, ces symptômes sont rarement dus à un seul virus, mais bien plutôt à l'effet d'un mélange ou d'un complexe de virus.

Définition des maladies à virus.

Une maladie à virus (sous-entendant, à virus filtrable) est celle dont les symptômes peuvent être reproduits, par inoculation, à une plante saine susceptible, du filtrat de jus exprimé d'une plante affectée.

On rapporte aussi, à ce groupe des maladies à virus, des maladies qui jusqu'ici n'ont pu être expérimentalement transmises que par l'intermédiaire d'insectes nourris préalablement sur des plantes affectées, ou sur le jus filtré exprimé de ces plantes malades.

Enfin, provisoirement et jusqu'à plus ample informé, il paraît logique de rattacher, au groupe des maladies à virus, certaines maladies qui, jusqu'ici, ne peuvent être transmises que par greffe.

Une maladie à virus se définit par les symptômes que provoque, dans des conditions de milieu déterminé, l'inoculation d'un virus déterminé, à une plante de constitution génétique déterminée.

Les symptômes, qu'ils soient appréciés macroscopiquement, histologiquement ou cytologiquement, ne sont en dernière analyse que la manifestation de troubles métaboliques et, plus particulièrement, de modifications de l'amylogénèse, de l'amylolyse, de l'intensité respiratoire, de la protéogénèse et de la protéolyse.

Les effets d'un même virus dépendant de l'âge de la cellule affectée, les méthodes d'investigation macrochimique ou physiologique risquent de confondre, dans une résultante confuse, les effets concomitants d'actions antagonistes.

Bien mieux, les effets d'un virus sur une cellule étant spécialement localisés à un certain territoire cellulaire, seules les méthodes de la cytologie fine, guidant l'étude cytochimique, peuvent permettre de comprendre le mode d'action des virus, en permettant d'étudier l'évolution pathologique des divers constituants de la cellule affectée.

L'étude des maladies à virus, après une période de description quant aux symptômes, d'empirisme quant au mode de

contamination, est entrée dans le domaine de la Biologie expérimentale depuis l'acquisition de ces quelques notions.

1° Un virus est formé de particules (représentant probablement chacune un microorganisme); chaque virus se définit :

a) Par ses propriétés physiques : dimensions, charge électrique des particules élémentaires ;

b) Par son pouvoir pathogène ou sa virulence, c'est-à-dire par son aptitude à faire apparaître, sur les plantes inoculées, des symptômes pathologiques généralisés ou des lésions nécrotiques localisées ;

c) Par la résistance de cette virulence aux agents physiques ; (température), ou chimiques.

2° Les symptômes d'une maladie à virus se définissent :

a) Par l'aspect macroscopique des variations de la couleur verte des feuilles (mosaïques, taches en anneau), par les déformations dues aux inégalités de croissance (frisolée) ou par les manifestations de l'inhibition de croissance (rosette, courtnoué);

b) Par les caractères histologiques des lésions (affectant plus ou moins spécifiquement tel tissu);

c) Par les modifications cytologiques, en particulier par la nature des « inclusions » formées par les cellules affectées (1) ;

(1) TECHNIQUES EMPLOYÉES POUR L'ÉTUDE CYTOLOGIQUE : Observation vitale dans le liquide de Ringer (NaCl , 6; KCl 0,075; CaCl_2 0,1; CO_2NaH , 0,1; eau 1.000).

Colorations vitales : rouge neutre en solution de Ringer.

Réactions microchimiques pour la tyrosine : réactif de Milon-Denigès; pour les lipides et les oléo-résines : bleu d'indophénol naissant.

Fixations. — Des coupes à main levée, des arrachements ou des dilacérations des tissus à fixer sont exécutées sous le liquide fixateur.

Liquide de Nemec : $\text{Cr}_2\text{O}_3\text{K}$, 1 p. 100, 50 cent. cubes; CrO_3 , 1 p. 100, 50 cent. cubes, formol 4 cent. cubes (fixer pendant vingt-quatre heures en changeant le liquide au moins une fois).

Liquide de Regaud : $\text{Cr}_2\text{O}_3\text{K}$, 4 p. 100, 40; formol neutre à 40 p. 100, 10 (fixer pendant quatre jours en changeant le liquide au moins une fois; post-chromater huit à vingt jours dans la solution de bichromate de potasse à 4 p. 100).

Les fixateurs bichromatés précipitent les composés phénoliques de leur solution, dans les vacuoles, sous forme de grains ou de sphères jaunes, fixant fortement les colorants, surtout les bleus basiques.

Les précipités ont un diamètre d'autant plus que la solution de bichromate est plus diluée.

Liquide de Meves : Acide osmique 2 p. 100, 10 cent. cubes; acide chromique 1 p. 100, 50 cent. cubes (fixer pendant huit jours) : les composés phénoliques sont précipités et colorés en noir; certains lipides sont colorés en bistre.

Colorations : après les fixateurs bichromatés; hématoxyline ferrique ou fuchsine acide; après le Meves : fuchsine acide.

Hématoxyline : La solution, préparée en broyant 2 grammes d'hématoxyline dans 10 grammes d'alcool puis en étendant avec 80 grammes d'eau plus

d) Par les modifications pathologiques du métabolisme cellulaire, en particulier par les troubles de l'amylogénèse et de l'amylolyse.

3° Certains virus sont virulents pour des plantes appartenant à un grand nombre d'espèces et même de genres différents; les symptômes de la maladie produite par l'inoculation d'un certain virus pouvant varier beaucoup selon le genre, l'espèce, la variété et même le génotype de la plante inoculée.

a) La réaction d'une plante à un virus déterminé dépend, bien entendu, non seulement de son genre, de son espèce, mais encore de sa constitution génétique;

b) La réaction d'une plante déterminée à un virus déterminé dépend :

1° De l'âge des tissus exposés à la contamination;

2° Des conditions de nutrition;

3° Des conditions de température : des symptômes évidents à une certaine température, peuvent être « masqués » à une température supérieure ou inférieure;

4° Un virus déterminé, au même titre qu'un organisme vivant quelconque, peut montrer des fluctuations, des variations dans le temps. Un certain virus X peut donner des formes de virulence atténuée ou exaltée X_1 , X_2 , X_3 .

Ces variations peuvent apparaître spontanément ou être provoquées par des « passages » chez des hôtes d'espèces différentes.

10 grammes de glycérine, est prête à l'emploi au bout de vingt-quatre heures d'exposition à l'air.

Les coupes, après un mordantage de quatre à huit jours dans une solution d'alun à 1 p. 100, sont colorées dans la solution d'hématoxyline pendant deux à huit jours, puis différenciées dans une solution d'alun à 0,5 p. 100.

(Si les coupes sont collodionnées, la différenciation est presque atteinte lorsque le collodion est décoloré.)

Fuchsine acide : La solution est obtenue en dissolvant 1 gramme de fuchsine acide dans 10 cent. cubes d'eau anilinée (fraichement préparée, en agitant pendant quinze minutes parties égales d'huile d'aniline et d'eau, puis en filtrant sur filtre mouillé).

Les coupes (collodionnées par immersion des lames dans un mélange de parties égales d'éther et d'alcool absolu contenant une trace de collodion non riciné) sont recouvertes de colorant et chauffées vers 80° jusqu'à émission de vapeurs; chauffer trois fois de suite (jusqu'à ce que la goutte de solution de fuchsine se couvre de couleurs d'irisation); laver, différencier par la solution à 1 p. 100 de vert de méthyle (dix à soixante minutes). Noyaux, nucléoles, mitochondries, stroma des plastes et cristalloïdes de protides : rouges, cytoplasme rose; amidon verdâtre; composés phénoliques rouges ou verts, toujours fortement colorés.

5° Deux virus, par leur coexistence dans une même plante, peuvent provoquer des symptômes pathologiques très différents de ceux que permettraient de prévoir l'action de chacun agissant isolément.

Les maladies à virus telles que nous les observons dans la nature paraissent rarement causées par un virus pur; les symptômes évidents résultent de l'action concomitante de deux ou plusieurs virus, présents à la fois dans la plante malade.

D'une plante affectée par un mélange (ou un complexe de virus) chaque virus peut être isolé à l'état pur, par des méthodes physiques, chimiques ou biologiques convenables.

6° Les maladies à virus étant, comme les autres maladies infectieuses, soumises aux lois de l'immunologie, les conséquences de l'infection par un virus (ou par un complexe) dépendent de l'histoire étiologique de la plante : une plante exempte de virus ne réagira pas comme une plante déjà infectée par un virus. Certains virus ont une action vaccinnante, d'autres une action sensibilisante.

7° Certaines plantes peuvent héberger certains virus sans manifester aucun symptôme pathologique : ces plantes peuvent être qualifiées de « porteuses de virus » et le virus est dit « latent ».

8° La présence d'un virus latent chez un « porteur de virus » peut être révélée par l'inoculation d'un second virus qui, en présence du virus latent, provoque des symptômes pathologiques différents de ceux qui se manifesteraient chez une plante préalablement exempte de virus.

Virus purs, mélanges et complexes de virus.

Beaucoup de faits jusque-là inexplicables, et en apparence contradictoires, ont reçu une explication logique lorsque K. Smith eut prouvé qu'il existe un virus X, extrêmement répandu dans la nature qui, seul ou en mélange avec un deuxième virus Y, est le grand responsable des maladies de mosaïque ou de frisolée de la pomme de terre ainsi que des divers états pathologiques du Tabac.

Le virus X est extrêmement répandu, même à l'état latent,

dans des plantes d'apparence saine; une piqûre d'aiguille souillée du jus d'une plante infectée suffit à le transmettre à une plante saine, mais il n'est pas transmis par les pucerons.

Au contraire, le virus Y ne peut être transmis que par l'intermédiaire d'un puceron (*Myzus persicæ*) qui, après avoir sucé la sève d'une plante infectée, peut contaminer une plante saine.

VIRUS X.

Virus X de K. Smith; virus du Tabac n° 5 de J. Johnson; Ringspot, virus de J. Johnson; Ringelviren de Kohler; virus Hy IV de *Hyoscyamus* d'Hamilton.

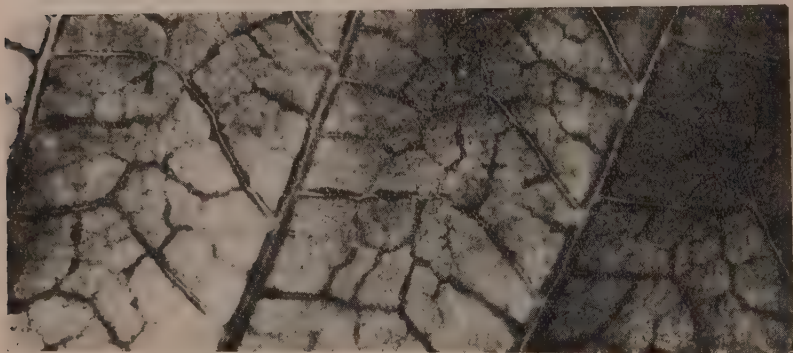


FIG. 1. — Positif, d'un négatif par contact, de portion de feuille de Tabac affectée par le virus Y. Les bandes vert foncé qui bordent les nervures, transmettant moins de lumière que le reste du tissu vert clair, apparaissent en noir sur fond gris (Photo Ramadier).

Les formes atténuées de virus X correspondent au virus latent des pommes de terre, au virus d' « American healthy potatoes », de Johnson, aux virus de « Stop necrosis » de Quanjer, et de la mosaïque banale de la pomme de terre.

Il existe probablement une série de formes d'inégale virulence, dont les atténuées, latentes chez la pomme de terre, se manifestent chez le *Datura* et le Tabac par une mosaïque, tandis que les formes plus virulentes se manifestent chez certaines variétés de pommes de terre par une mosaïque et chez le Tabac par des taches annulaires, et que les formes les plus virulentes causent, chez certaines variétés de pommes de terre, des nécroses (*top necrosis* de Quanjer), qui affectent d'abord les tissus libériens pour se généraliser ensuite aux autres tissus.

Le virus X peut provoquer, dans les cellules affectées, des modifications locales du cytoplasme, illogiquement nommées « X-bodies ».

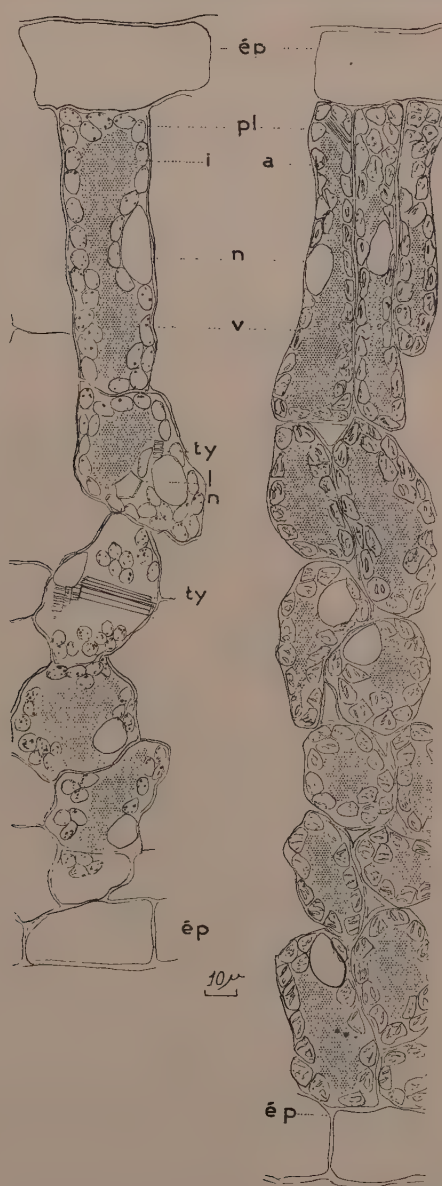


FIG. 2. — Coupes transversales de la feuille de Tabac affectée de virus Y. A gauche, au niveau du tissu vert clair, à droite, au niveau d'une bande vert foncé; *v*, solution vacuolaire colorable vitalement par le rouge neutre (figurée en gris); *i*, gouttelettes huileuses (colorables post-vitalement par le bleu d'indophénol) dans les plastes *pl* des cellules vert clair; *a*, grains d'amidon dans les plastes des cellules vert foncé; *n*, noyau; *ty*, cristaux de tyrosine; *ep*, épiderme.

VIRUS Y.

Virus Y (Vein banding virus des auteurs américains).

Ce virus affecte particulièrement les tissus vasculaires des feuilles (décoloration des nervures); les formes graves (streak) se manifestent par des nécroses le long des nervures.

Le virus Y inoculé au Tabac par des *Myzus persicæ* préalablement nourris sur des pommes de terre infectées, rend d'abord translucides les nervures des jeunes feuilles. Ce virus est commun sur les Tabacs cultivés au voisinage des Pommes de terre.

Il paraît exister une série de formes de virus Y, différant quantitativement quant à leur degré de virulence. Kohler propose de rapporter au groupe des

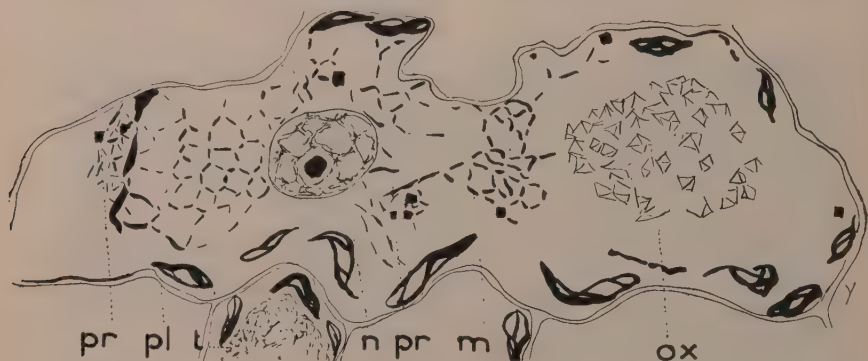


FIG. 3. — Cellule d'épiderme arrachée de la surface d'une feuille de Tabac affectée de virus Y, et fixée par le mélange formol-bichromate de potasse, acide chromique; la fuchsine acide colore : en rose, le noyau (n); en rouge, le nucléole, les mitochondries (m) [dont l'alignement dessine le réseau en « nid d'abeilles » que forment certains réseaux cytoplasmiques], le contour des plastes (pl) et les cristaux protéiques (pr).

La « polarisation » de la cellule se manifeste par la disposition des mitochondries autour d'un système de petites vacuoles, au voisinage du noyau, tandis que l'autre extrémité de la cellule est occupée par une grande vacuole riche en tétraèdres d'oxalate de calcium ox.

virus Y les virus qui, inoculés au *Datura stramonium*, ne provoquent aucun symptôme, inoculés à l'état pur à un Tabac sain rendent les nervures des feuilles plus ou moins translucides et qui, inoculés à un Tabac infecté de virus X, exagèrent la manifestation pathologique des symptômes.

INOCULATION AU TABAC DU MÉLANGE DE VIRUS X + Y.

(Synthèse du virus n° 4 de Johnson.)

K. Smith, inoculant à une jeune plante de tabac (White Burley ou Virginia), au moyen d'une piqûre d'aiguille, le

mélange des virus X et Y, voit, au bout de quatre jours, les premiers symptômes du virus X se manifester autour du point d'inoculation par deux anneaux concentriques; trois jours plus tard, c'est-à-dire après sept jours d'incubation, le virus Y se manifeste par une décoloration des nervures des jeunes feuilles. Plus tard, ces jeunes feuilles réagiront, par des nécroses locales, à la généralisation du virus X. Le virus X parvenant dans les jeunes tissus plus tard que le virus Y, ne peut, dans les tissus déjà infectés par le virus Y, faire apparaître les taches annulaires caractéristiques du virus X pur.

En résumé, le virus X, après une courte incubation, se manifeste par des lésions locales au point d'inoculation, mais se généralise lentement. Le virus Y se généralise rapidement et atteint les jeunes feuilles, pour s'y manifester avant le virus X.

De plantes de Tabac infectées depuis longtemps par le mélange X+Y, K. Smith a pu souvent isoler le virus Y, à l'état pur, des jeunes feuilles.

VIRUS A.

Ce virus a été récemment isolé par Murphy et Mc Kay des pommes de terre de la variété Irish Chieftain; il est transmis par le Puceron *Myzus persicae*. Il détermine une décoloration des nervures (vein banding) du Tabac. Il correspond sans doute à une forme de virus Y.

Les maladies à virus du Tabac.

James Johnson a décrit 9 virus capables de provoquer des maladies à virus du Tabac. 6 d'entre ces virus peuvent conventionnellement être considérés essentiellement comme des virus du Tabac.

La mosaïque qui s'observe naturellement dans certaines cultures peut être la manifestation d'une infection par un mélange de certains de ces virus. Dans les champs, la mosaïque commence à se manifester dès après le repiquage, soit :

1° Par une décoloration des tissus le long des nervures d'une jeune feuille (les nervures deviennent translucides, d'où le nom anglais de « vein clearing »).

2° Par un jaunissement de la pointe du limbe d'une jeune feuille.

A mesure que la plante se développe, les jeunes feuilles successivement formées peuvent montrer une mosaïque de plages vert foncé, vert pâle ou jaunâtre sur le fond vert clair de la feuille qui peut se gaufrer ou se déformer par suite d'inégalités de croissance.

Le virus du Tabac n° 1 (défini par Allard, 1914) est sans doute le plus commun en France; il cause une mosaïque aggravée de déformation des feuilles et d'un nanisme de *N. tabacum*.

Virus n° 1 de James Johnson

correspond aussi probablement au virus de la mosaïque A. de Fernow).

C'est le virus le plus commun dans les cultures de Tabac, en particulier en France. Il se caractérise essentiellement par les quatre propriétés suivantes :

1° Résistance extraordinaire aux agents de destruction par le fait qu'il conserve sa virulence pendant une vingtaine d'années dans les tissus desséchés des tabacs affectés, en herbier et même dans les tabacs manufacturés à fumer, à chiquer et qu'il reste virulent, au moins d'une année à l'autre, dans les débris de plantes affectées enfouies dans le sol.

2° Inoculé au Tabac (*N. tabacum*), il ne fait apparaître aucune lésion évidente au point d'inoculation (les symptômes primaires, limités à une accumulation d'amidon autour des points de pénétration du virus, ne peuvent être révélés que par l'étude histochimique). Les premiers symptômes secondaires se manifestent par une décoloration des tissus le long des nervures des jeunes feuilles (*vein clearing*), puis par une mosaïque des feuilles qui se différencient après l'inoculation. Dans les cas graves, on observe des déformations foliaires et le nanisme par inhibition de croissance.

L'infectiosité est telle que la contamination d'un Tabac sain est à redouter lorsqu'on manipule une de ses feuilles après avoir manipulé un Tabac affecté de mosaïque ou une cigarette faite de tabac affecté. Les ouvriers qui chiquent du tabac affecté de mosaïque contaminent les Tabacs sains par leurs crachats.

3° Inoculé au Tabac ou à toute autre plante susceptible de manifester une mosaïque, le virus n° 1 fait apparaître, dans les cellules, des « corps vacuolisés » (« vesiculated bodies », ou « X bodies » des auteurs de langue anglaise) et souvent des faisceaux de cristaux de tyrosine « striated bodies » et des cristaux tabulaires formés probablement de leucine (plate bodies).

4° Inoculé au *N. glutinosa*, le virus n° 1 provoque, aux points de pénétration, des nécroses qui localisent l'infection.

Plantes susceptibles au virus n° 1 (Grant 1934).

1° INFECTION GÉNÉRALISÉE.

Hydrophyllacées :

Phacelia whillavia : Mosaïque, déformation, nanisme.

P. parryi : Mosaïque, déformation, nanisme.

P. campanularia : Mosaïque, déformation, nanisme.

P. grandiflora : Jaunisse, mosaïque.

P. tanacetifolia : Jaunisse, mosaïque.

Renonculacées : *Delphinium consolida* : Jaunisse, mosaïque, nécrose.

Borraginées : *Cynoglossum amabile* : Mosaïque, malformation, nanisme.

Martyniacées : *Martynia louisiana* : Mosaïque, malformation, nanisme.

Chenopodiacées : *Spinacia oleracea* : Jaunisse, mosaïque, nanisme.

2° RÉACTIONS LOCALES AVEC JAUNISSE.

Chénopodiacées : *Beta* et *Tetragonia expansa*.

2 bis NÉCROSE LOCALE.

Légumineuses : *Phaseolus vulgaris*.

3° RÉACTIONS VARIABLES.

a) Symptômes masqués.

Scrophulariacées : *Linaria cymbalaria*.

Composées : *Emilia sagittata*.

b) Jaunisse.

Composées : *Tagetes patula*. *Zinnia elegans*.

Convolvulacées : *Ipomœa tricolor*.

Scrophulariacées : *Digitalis purpurea*. *Verbascum thapsus*.

c) Mosaïque.

Polygonacées : *Fagopyrum esculentum*.

Polémoniacées : *Phlox drummondii*.

Formes inégalement virulentes du virus n° 1 du Tabac.

J. Johnson (1926-1927), J. Johnson et Grant (1932), E. M. Johnson (1930) et divers autres auteurs ont décrit des formes atténuées du virus n° 1 de la mosaïque du Tabac.

D'une façon générale, on peut distinguer, parmi les virus n° 1, une série de formes dont les plus virulentes déterminent chez les divers *Nicotiana* un nanisme d'autant plus accusé que la chlorose accompagnant la mosaïque est elle-même plus intense.

On peut, par exemple, distinguer :

1° Une forme de « virus déformant » qui arrête presque complètement la croissance des plantes inoculées;

2° Une forme type de « mosaïque » qui réduit beaucoup moins la vitesse de croissance;

3° Une forme « latente » qui réduit si peu la croissance que les plantes inoculées atteignent presque la taille des plantes normales.

Chez le *Nicotiana rustica* inoculé dès le jeune âge, le virus « déformant » cause des lésions primaires nécrotiques et des lésions secondaires graves ;

déformation des feuilles, nécrose des nervures des feuilles et enfin la mort des jeunes feuilles, puis de la tige et de la plante tout entière.

La forme de virus type de « mosaïque » cause des lésions primaires nécrotiques et secondairement des déformations des feuilles, mais sans tuer la plante.

Le virus latent détermine des lésions nécrotiques primaires, mais sans symptômes secondaires évidents et sans nuire à la croissance de la plante.

Forme latente du virus n° 1 de la mosaïque du Tabac.

Holmes vient de décrire une forme latente capable de se généraliser dans le Tabac et dans diverses autres espèces de *Nicotiana* sans y faire apparaître de symptômes (les *Nicotiana* inoculés peuvent montrer des taches jaunes isolées dues au virus de la mosaïque jaune représentant une contamination du virus n° 1).

Les espèces de Tabac qui donnent les réactions les plus marquées vis-à-vis du virus n° 1, par exemple *N. clelandii* et *N. bigelovii*, manifestent une mosaïque nette à la suite de l'inoculation du virus latent.

Le virus latent, inoculé au *N. tabacum*, ne provoque aucun symptôme évident à l'œil nu; mais, comme les autres formes du virus n° 1, il provoque dans les tissus inoculés une accumulation d'amidon qui peut être mise en évidence dans les feuilles maintenues pendant seize heures à 10°, puis pendant quatre à six heures à 22°, à l'obscurité, après une période d'insolation. L'étude de la répartition de l'amidon montre que le virus latent affecte d'abord de petites plages arrondies dans la feuille inoculée, puis se généralise le long des nervures et pénètre les feuilles du sommet de la plante en suivant les nervures, et, par conséquent, en suivant le même trajet qui est mis en évidence, dans le cas des formes plus virulentes de virus, par la décoloration des tissus le long des nervures. Mais le virus latent ne paraît jamais se généraliser autant ni aussi vite que les formes plus virulentes, et, chez les jeunes feuilles inoculées, le virus latent paraît localisé à des centres secondaires d'infection, en forme d'anneaux séparés.

Toutes les formes de virus n° 1 résistent pendant dix minutes à une température de 70°, sont inactivées dans l'ordre de 90 p. 100 à 75-80° et inactivées totalement à 80-85°.

Le « virus déformant » est atténué par passages dans des hôtes maintenus à une température supérieure à 34; il ne paraît guère se multiplier dans les tissus à 35°, température à laquelle la forme « latente » se multiplie selon une fonction exponentielle du temps.

Toutes les formes de virus n° 1 sont capables de provoquer des infections à la dilution de 1/1.000.000; mais le virus latent se comporte toujours comme s'il était moins concentré que les autres formes de virus n° 1.

Les Tabacs inoculés avec des mélanges des différentes formes de virus n° 1 montrent généralement les symptômes qui caractérisent la forme la plus virulente. Cependant, l'inoculation de mélange peut provoquer un symptôme particulier qui se manifeste par des taches angulaires.

POSSIBILITÉ DE VACCINATION DES TABACS PAR LE VIRUS LATENT.

Holmes a inoculé un certain nombre de Tabacs par le virus latent, et, au bout de une, deux ou trois semaines, il a inoculé comparativement le virus déformant à ces Tabacs inoculés par le virus latent et à des Tabacs neufs.

Dans tous les cas, les symptômes caractéristiques du virus déformant se sont manifestés dans les feuilles des sommets des plantes; mais, en général, les plantes qui avaient été préalablement inoculées par le virus latent manifestaient ces symptômes plus tardivement, et souvent même ne les manifestaient d'abord que d'un seul côté. Le virus latent protège surtout lorsqu'il est inoculé une semaine avant le virus plus virulent.

Ces résultats sont du même ordre que ceux obtenus par Salaman qui vaccine les Tabacs par la forme atténuée (G) du virus X contre les formes virulentes, par Kunkel qui vaccine *N. sylvestris*, contre les formes virulentes de virus n° 1 ou « aucuba », par l'inoculation de formes atténuées.

VIRUS 2 A 9 DU TABAC.

Virus n° 2. — Mosaïques et taches nécrotiques sur Tabacs : mosaïques malformation et nanisme sur *Petunia*, chlorose et malformation sur *Hyoscyamus niger*; aucun symptôme sur *N. glutinosa*, *Capsicum* ou *Phytolacca decandra*.

Virus n° 3 du Tabac cause sur le tabac une « mosaïque bénigne » (*J. Johnson*) dont les symptômes peuvent disparaître pour réapparaître suivant les circonstances; chlorose et nanisme de *N. glutinosa*, mosaïque et déformation de *N. rustica*; aucun symptôme sur *N. glauca* et sur *Phytolacca*.

Virus du Tabac n° 4. — Complexe des virus X et Y de la Pomme de terre, capable de faire apparaître sur le Tabac des taches nécrotiques.

Virus du Tabac n° 5. — Voir virus X et virus des taches en anneau.

Virus n° 6 de la mosaïque jaune du Tabac (Virus de l'« Aucuba-mosaïque » de la Tomate, Bewley). — Le virus n° 6 de la mosaïque jaune paraît beaucoup plus rare que le virus n° 1 de la mosaïque verte.

Dans les cultures, la plupart des Tabacs montrant de la mosaïque sont probablement infectés par le virus n° 1 pur.

Quelquefois, le virus n° 6 peut s'ajouter au n° 1 et faire apparaître des taches jaunes, dans les tissus desquelles le n° 6, quoique mélangé au virus n° 1, est suffisamment concentré pour que cinq ou six passages et réisolements successifs permettent de l'obtenir presque pur (McKinney, J. Dufrénoy).

Le virus n° 6 ne représente probablement qu'une forme particulièrement virulente du virus n° 1.

Le virus n° 7 n'est sans doute qu'une forme du virus n° 1.

Le virus n° 8 de la « mosaïque décolorante » cause sur les jeunes Tabacs une panachure parfois aggravée de chlorose.

Virus n° 9. — Virus de « Tomate stem necrosis » virus de « stripe » de la Tomate en Angleterre; complexe de virus de la mosaïque de la Tomate et de virus du « spotted wilt ». Inoculé au Tabac, il produit une mosaïque bénigne, de taches vert clair et vert foncé.

Virus des taches en anneau (« Ringspot viruses », Ringelviren). — Plusieurs virus, faciles à distinguer d'après les symptômes que provoque chacun à l'état pur, ou diverses combinaisons deux à deux, sur les Pommes de terre ou les Tomates, provoquent, chez le Tabac, des réactions annulaires du type « ringspot »; tels sont :

1° Virus du Tabac n° 5 : Ringspot, virus de Johnson; virus X de la Pomme de terre (K. Smith, fig. 1, p. 19 et fig. 4, p. 20); virus Hy. IV de *Hyoscyamus* (Hamilton); « virus latent » des Pommes de terre ou « American healthy potatoes »; virus de Johnson; virus du « top necrosis » de Quanjer.

2° Le Tobacco Ringspot de Fromme, Wingard et Priode, qui se manifeste en quarante-huit, à soixante heures sur la feuille inoculée, par des anneaux primaires de 1 millimètre de diamètre, qu'entourent, vers le quatrième jour, des anneaux de 3 à 4 millimètres, puis, deux jours plus tard, par des anneaux de 6 à 7 millimètres.

Ce virus est celui qui est capable d'infecter le plus grand nombre de plantes; Wingard a observé des plantes susceptibles dans 72 genres.

Le fait qu'il passe à travers une bougie Berkfeld W et qu'il reste virulent pendant vingt-deux mois dans le jus exprimé des plantes affectées, le distingue du virus dit du « spotted wilt » de la Tomate qui provoque sur le Tabac, comme sur diverses autres plantes, des taches, en anneaux concentriques.

DIVERSITÉ DES SYMPTÔMES.

En résumé, un même virus tel que le virus n° 1 de la Mosaïque du Tabac peut : se généraliser chez *N. tabacum* en causant une « mosaïque » caractérisée cytologiquement par une réticulation du cytoplasme, qui s'exagère au niveau du cytoplasme formant l'« inclusion ou X. body » mais sans une accumulation de composés phénoliques dans les vacuoles; rester localisé chez *N. glutinosa* à des taches nécrotiques autour desquelles des cellules réactionnelles accumulent des composés phénoliques dans leurs vacuoles.

Chez un même hôte, *N. tabacum*, tandis que le virus n° 1 se généralise sans manifestation de symptôme primaire et sans provoquer d'accumulation évidente de composés phénoliques, le virus n° 6 fait apparaître, au point d'inoculation, des symptômes primaires localisés à des plages de cellules où s'accumulent des composés phénoliques dans de petites vacuoles groupées (Dufrénoy, 1933).

Nous pouvons donc conclure que l'immunité locale vis-à-vis de virus se manifeste comme l'immunité locale vis-à-vis des champignons ou bactéries phytopathogènes, par la formation de composés phénoliques.

LES FORMES DE L'IMMUNITÉ.

Nous emploierons ici le mot immunité pour désigner toutes les formes de résistance vis-à-vis d'un virus; résistance :

1° A l'infection par le virus au moment de l'inoculation;

2° A la multiplication du virus dans les tissus exposés à l'infection;

3° A la généralisation du virus, par une tendance à la localisation nécrotique.

Il convient évidemment de distinguer d'abord l'immunité naturelle de l'immunité acquise.

L'immunité naturelle est le pouvoir, que possède une plante, de résister à une première inoculation d'un virus.

L'immunité acquise résulte de l'exaltation, par une première inoculation vaccinnante, du pouvoir de résistance, en sorte que la plante résiste mieux à une inoculation ultérieure.

Les différentes formes de l'immunité ou de la résistance des plantes à un certain virus sont bien illustrées par les résultats obtenus par Holmes; le virus de la mosaïque du Tabac est inoculé au *Physalis viscosa*, sans qu'il en résulte un phénomène observable. Le virus ne pénètre pas, la plante paraît jouir d'une immunité absolue, dont le mécanisme ne met en jeu aucune réaction qui puisse faire l'objet d'étude histologique, cytologique ou histochimique.

Le même virus de la mosaïque du Tabac, inoculé au *P. alkekengi*, s'y généralise en restant latent, sans que se manifeste aucun symptôme morbide.

Inoculé au *P. peruviana*, il se généralise en se manifestant par une mosaïque. Enfin, inoculé au *P. angulata*, il provoque des réactions nécrotiques locales.

L'immunité « naturelle » ou « résistance », qu'elle se manifeste contre un virus, une bactérie ou un champignon phytopathogène, est fonction de l'intensité des réactions cytologiques ou histologiques locales; pour nous, les plantes les plus résistantes sont celles qui réagissent à l'inoculation par la réaction la plus brutale, localisant plus rapidement et plus étroitement le territoire infecté autour du point d'inoculation.

L'IMMUNITÉ LOCALE ET LES RÉACTIONS CYTOLOGIQUES.

Lorsqu'un virus est inoculé à une plante, les cas suivants peuvent s'observer.

1° L'inoculation ne réussit pas : aucune réaction primaire ne s'observe au point d'inoculation, aucune réaction secondaire ne s'observe dans le reste de la plante. On convient d'attribuer

à la plante qui ne prend pas le virus une « immunité absolue » ;

2° L'inoculation réussit : plusieurs cas peuvent encore s'observer.

a) L'inoculation provoque une « réaction primaire » locale, généralement sous forme d'une tache nécrotique, mais, soit que cette lésion se cicatrise, soit que la feuille portant cette tache se détache et tombe, le virus ne se généralise pas. La plante peut être qualifiée de résistante.

b) L'inoculation provoque : une « réaction primaire », évidente, sous forme d'une chlorose locale, et des « symptômes secondaires » généralisés.

c) L'inoculation ne provoque pas de réaction primaire évidente ; la réaction primaire, qui se manifeste par une stase d'amidon, ne peut être décelée que par l'examen microchimique, mais des symptômes secondaires se manifestent sous forme de mosaïque, de déformation, de nanisme, dans les feuilles qui se développent postérieurement à l'inoculation : la plante est « susceptible ». Généralement, chaque cellule affectée par le virus réagit par une modification locale du cytoplasme, en formant une « inclusion vésiculisée » qui peut être considérée comme enkystant le virus. Ces inclusions sont particulièrement évidentes dans les cas de mosaïque, causées par le virus n° 1 du Tabac (ou par les virus n° 6 et 7) par le virus X de K. Smith et par divers autres virus affectant la Canne à Sucre, le Blé, les Iris...

d) L'inoculation ne provoque ni réaction primaire, ni symptômes secondaires évidents : le virus se généralise en restant latent : il peut être décelé par diverses techniques dans la plante qui est dite « porteur ».

Généralisation ou localisation des virus.

Une classification préliminaire des maladies à virus doit distinguer :

1° Celles qui se manifestent par une mosaïque, panachure de taches vert clair (et souvent aussi vert foncé) sur le fond vert normal, sans taches nécrotiques évidentes, et

2° Celles qui, en tuant localement les tissus, provoquent des lésions à contours nettement délimités en « anneau » ou en caractères cunéiformes.

Mais un même virus peut, selon l'hôte et selon les conditions de milieu se généraliser pour provoquer une mosaïque, ou provoquer de la part de l'hôte une tendance à la localisation des lésions.

LOCALISATION DU VIRUS.

La possibilité pour un virus donné de se généraliser dans une plante inoculée ou de ne produire que des lésions localisées, dépend :

1° De l'espèce de la plante inoculée, ou plus exactement de sa constitution génétique;

2° De l'âge de l'organe inoculé;

3° Des conditions de température, d'éclairement et peut-être de nutrition;

4° De l'histoire antérieure de la plante : absence ou présence préalable de virus.

1° INFLUENCE DE L'ESPÈCE. — Un virus, comme celui du « spotted wilt » de la Tomate, qui peut être inoculé avec succès dans un très grand nombre d'espèces de plantes, reste généralement localisé à des lésions nécrotiques dans les feuilles de *Petunia*, de *Solanum capsicastrum* et de Tabac. Dans le cas du Tabac, la feuille inoculée peut tout entière être affectée de nécrose, mais le virus ne descend pas par le pétiole vers le reste de la plante, qui demeure indemne.

L'APTITUDE A LOCALISER LES LÉSIONS EST UN CARACTÈRE HÉRÉDITAIRE.

Tandis que, dans la plupart des variétés de *Capsicum frutescens*, le virus n° 1 se généralise en provoquant la mosaïque et le nanisme, certaines variétés telles que « Tabasco » localisent le virus aux points d'inoculation par une nécrose locale; chaque feuille inoculée, après avoir réagi par des nécroses, se détache de telle sorte que la plante reste saine dans son ensemble.

F. O. Holmes a montré que cette aptitude à s'opposer à la

généralisation du virus est le fait d'un seul facteur dominant, de telle sorte que le croisement d'une variété résistante avec une variété sensible donne des hybrides F_1 tous résistants, et, en F_2 , 25 p. 100 de résistants homozygotes, 50 p. 100 de résistants hétérozygotes et 25 p. 100 de récessifs susceptibles.

2° INFLUENCE DE L'ÂGE. — Le virus X de la Pomme de terre se généralise, quoique lentement, lorsqu'il est inoculé à une plantule de Tabac. Il reste localisé en taches annulaires lorsque la plante inoculée à plus de quatre ou six semaines, de telle sorte que la plante dans son ensemble n'est pas infectée.

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES RÉACTIONS DES PLANTES AUX VIRUS.

Étant supposée déterminée, génétiquement, la plante exempte de virus, soumise à l'inoculation, déterminé, biologiquement et physiquement, le virus (ou le mélange de virus) à inoculer, déterminées enfin les conditions de milieu où vit la plante après l'inoculation, l'étude cytologique des réactions de la plante aux virus doit fournir un critérium précieux pour l'établissement d'une classification des maladies à virus.

Mais il paraît vain de songer à établir une telle classification d'après les seules données de l'étude cytologique. Quelles que soient les causes d'excitation qui puissent agir sur une cellule, celle-ci réagit surtout en fonction de l'intensité et de la durée de l'excitation : toute excitation paraît d'abord causer une exagération de l'intensité respiratoire, avec les conséquences qui en résultent quant aux modifications de la structure cellulaire, modifications qui se trahissent, avant tout, par une fragmentation de l'appareil vacuolaire.

Il existe donc un type général de réaction à l'excitation, que cette excitation soit traumatique, chimique ou parasitaire.

Quelle que soit la cause de l'excitation, son effet paraît fondamentalement le même. Chez les plantes carnivores, où Darwin l'étudia pour la première fois sous le nom de « aggregation phenomena », la fragmentation de l'appareil vacuolaire s'explique par l'ingestion d'acides-amino de proies capturées. Dans les cellules carencées, cette fragmentation doit résulter de l'accumulation d'acides-amino inutilisés par suite d'inhibition des

synthèses cellulaires. Dans les cellules parasitées, cette fragmentation résulte encore d'accumulation d'acides-amino, soit du fait de la protéolyse des lipo-protéides, soit du fait de la non-utilisation des acides-amino.

Dans tous les cas, l'enrichissement de la solution vacuolaire en acides-amino paraît se trahir, microscopiquement, par la fragmentation d'une vacuole, primitivement volumineuse, en un groupe de très petites vacuoles.

Cette fragmentation peut ne pas affecter l'ensemble du sys-

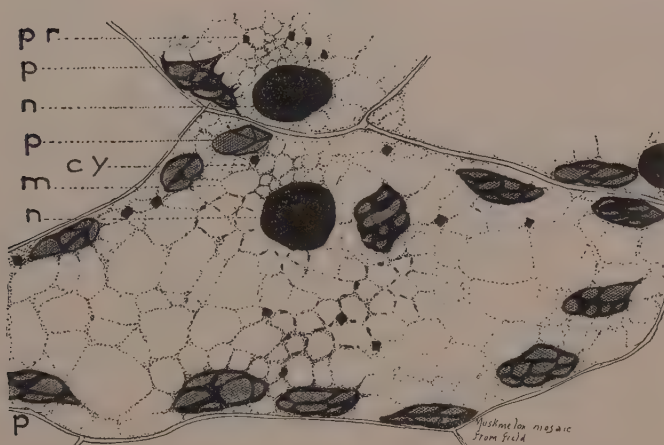


FIG. 4. — Cellule épidermique de feuille d'un *Cucumis melo* (Muskmelon) montrant des symptômes de mosaïque à la suite d'inoculation du jus d'un *Cucumis melo* trouvé affecté de mosaïque dans les cultures (Shapovalov).

Autour du noyau *n*, le cytoplasme forme un réseau de trabécules *cy* fortement colorables et richement pourvus de mitochondries, *m*. Ce réseau hyperchromatique *cy* figure l'ébauche d'une inclusion vacuolisée (vacuolated body). Les plastes *p* sont bourrés de grains d'amidon. Les cristalloïdes de protéine sont abondants (*pr*).

tème vacuolaire de la cellule : généralement, elle affecte seulement une ou deux des vacuoles situées, soit au voisinage du noyau, soit vers un pôle de la cellule (fig. 4) ainsi que le démontrent les colorations vitales ou les méthodes mitochondriales, appliquées à l'étude des phases initiales de la réaction cytologique à l'effet du virus. Ces méthodes permettent d'interpréter cytologiquement les inclusions cellulaires dites « X bodies » décrites dès 1924 par *K. Smith*, plus récem-

ment par *Miss Clinch*, dans les pommes de terre affectées par le virus X, puis par *Miss Hoggan* dans le Tabac affecté par le virus n° 1 de la mosaïque banale, par le virus n° 7 de la mosaïque moyenne et par le virus n° 6 de la mosaïque jaune.

Le virus n° 1 de la mosaïque du Tabac fait apparaître des « X bodies » dans les divers hôtes où son inoculation fait apparaître des symptômes de mosaïque.

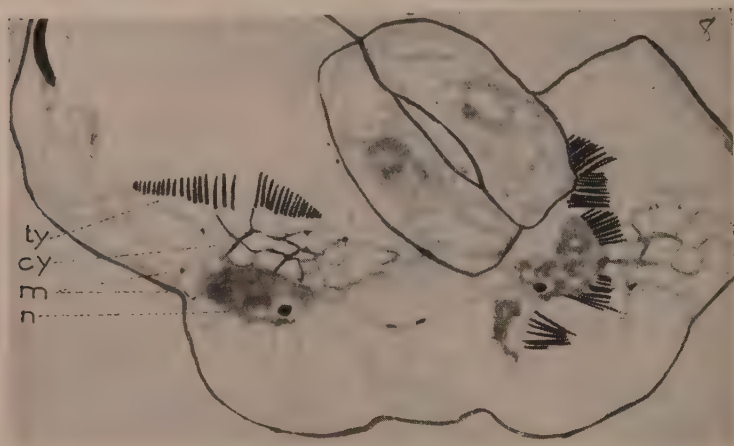


FIG. 5. — Cellule épidermique de feuille de Tabac auquel Shapovalov a inoculé expérimentalement le complexe de virus du « combination streak ». Le virus n° 1, qui se manifeste extérieurement sur la feuille par une mosaïque de taches vert clair sur le fond vert du limbe, fait apparaître dans la cellule les inclusions caractéristiques et en particulier les cristaux (formées vraisemblablement de tyrosine) associés en corps striés, *ty*.

Au voisinage du noyau, la réticulation du cytoplasme en trabécules *cy* hypercolorables, riches en mitochondries (*m*), en cristalloïdes de protéine et en gouttelettes de lipides, ébauche ce dont l'exagération apparaît comme une « inclusion vacuolisée » « X body » ou « corps amiboïde » et qui a été fantaisistement interprété par certains auteurs comme représentant un parasite intracellulaire.

Cytologiquement, c'est l'homologue d'une « tache de Golgi », c'est-à-dire le résultat d'une hyperactivité locale du cytoplasme, correspondant vraisemblablement à la localisation, dans le territoire cytoplasmique correspondant, d'une colonie de virus.

CORRÉLATION ENTRE RÉSISTANCE ET COMPOSÉS PHÉNOLIQUES.

Le virus n° 1 provoque, chez les plantes « susceptibles » où il se généralise en se manifestant par une mosaïque, la formation

d' « X bodies » produits de la réaction locale du cytoplasme de chaque cellule, sans formation appréciable de composés phénoliques.

Le virus n° 1 ne se généralise pas dans les tissus de *N. glu-*

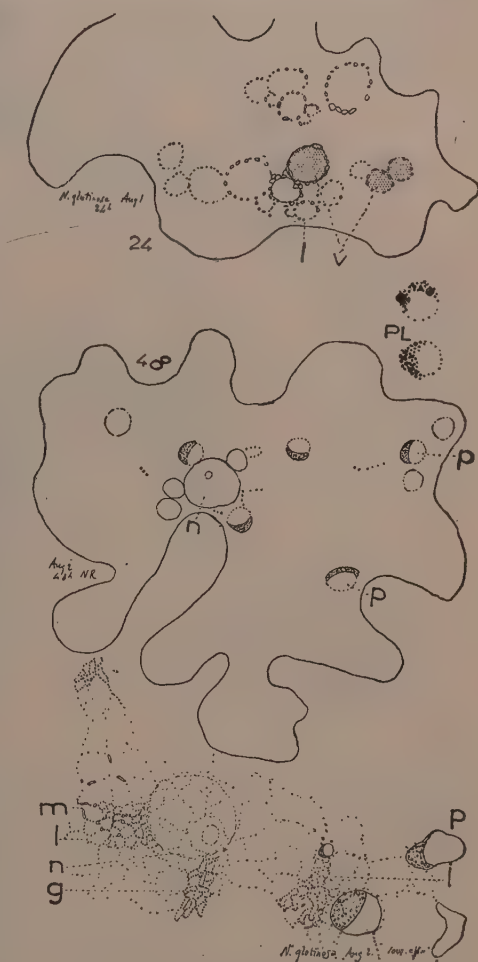
Fig. 6. — Cellules d'épiderme inférieur de feuille de *Nicotiana glutinosa* dont l'épiderme supérieur avait été badigeonné, le 31 juillet, avec le virus n° 1 de Johnson (de la mosaïque du Tabac).

Vingt-quatre heures après l'inoculation (1^{er} août), [inoculation faite par le Dr Takahashi] l'examen vital montre que le cytoplasme pariétal découpe une série de vacuoles arrondies, dont certaines seulement (*v*) contiennent encore une solution colorable par le rouge neutre (et figurée en grisé). Le contour des vacuoles est nettement dessiné par les mitochondries et les globules de graisse (*l*) alignés le long des trabécules cytoplasmiques.

Quarante-huit heures après l'inoculation (2 août), les plastides, qui tendent à s'agglutiner, montrent une dégénérescence graisseuse unipolaire; dans les cellules colorées vitalelement par le rouge neutre en solution isotonique, et examinées sous l'objectif 1/7e A, ils apparaissent comme des croissants (*p*). Après coloration post vitale par le bleu d'indophénol (PL), ils montrent, sous l'objectif 2 millimètres, le groupement unipolaire des gouttelettes de lipides *l* (figurées en noir dans la figure PL, donnant le détail de deux plastides).

Dans la cellule inférieure

(examinée aussi quarante-huit heures après l'inoculation), les mitochondries et les globules graisseux, alignés le long des trabécules cytoplasmiques réticulés, rendent évident le développement des surfaces de contact cytoplasme-vacuole, dans certains ilots cytoplasmiques (*g*). C'est l'ébauche d'une « inclusion vacuolisée » qui apparaît très tôt, avant tout symptôme morbide perceptible sur la plante, mais qui ne pourra s'accuser, car la cellule tout entière est bientôt affectée de nécrose; *n*, noyau; *l*, gouttelettes de lipides; *m*, mitochondries.



tinosa dont les cellules réagissent, autour du point d'inoculation par la formation rapide de composés phénoliques intravacuolaires : cette espèce peut être qualifiée de résistante.

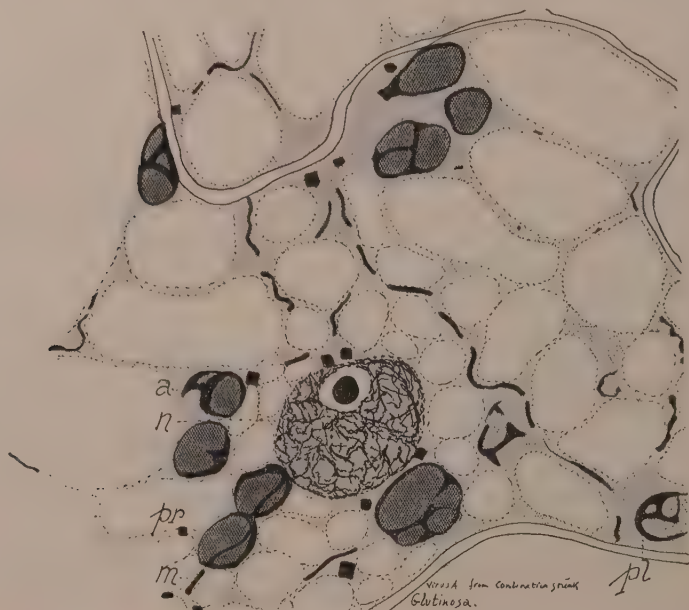


FIG. 7. — Partie d'une cellule épidermique de feuille de *Nicotiana glutinosa* inoculée par le virus n° 1 de Johnson, de la mosaïque du Tabac, isolé du complexe du « combination streak », noter l'accumulation d'amidon figurée en grisé foncé dans les amyloplastes (a); n, noyau; m, mitochondries; pr, cristalloïdes de protéine.

Le même virus n° 1, inoculé au *N. glauca*, n'y provoque aucune réaction ni symptôme évident, quoiqu'il s'y généralise : cette espèce est tolérante.

LÉSIONS NÉCROTIQUES

CAUSÉES SUR LES FEUILLES DE « *NICOTIANA GLUTINOSA* »
PAR L'INOCULATION DU VIRUS PROVENANT DU COMPLEXE
QUI CAUSE LE « COMBINATION STREAK » DE LA TOMATE.

Grâce à l'obligeance de M. Shapovalov, nous avons pu étudier, au laboratoire du Mount Rubidoux, à Riverside (Californie), les lésions expérimentales produites sur *N. glutinosa*

par l'inoculation de celui des composants du complexe de virus du « combination streak » qui correspond au virus n° 1 de la mosaïque du Tabac, virus qui, comme nous l'avons précédemment indiqué, fait apparaître, au point inoculé, sur *N. glutinosa*, des taches nécrotiques (fig. 4 à 8).

Des lambeaux d'épiderme arrachés au niveau de ces taches montrent, au milieu de cellules épidermiques d'apparence nor-

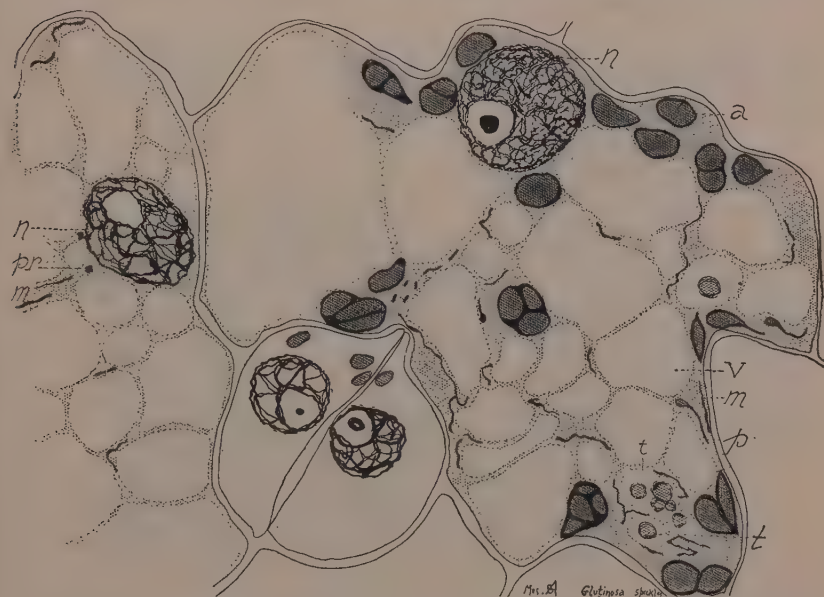


FIG. 8. — Cellule épidermique d'une tache nécrotique causée sur une feuille de *Nicotiana glutinosa* par l'inoculation du virus n° 1 de Johnson, isolé du complexe du « combination streak » de la tomate (Shapovalov). Les débuts de nécrose se manifestent par l'accumulation de composés phénoliques *t*, dans des vacuoles, vers l'un des pôles de la cellule. Le reste de la cellule montre encore une structure à peu près normale; *n*, noyau; *m*, mitochondries; *p*, plastes; *a*, amyloplastes; *pr*, cristaux de protéine.

male, une plage de cellules tuées qu'entourent des « cellules réactionnelles ».

Dans ces cellules réactionnelles, l'effet du virus se manifeste d'abord, comme dans tous les autres cas étudiés, par une réticulation du cytoplasme, affectant plus spécialement une région voisine du noyau, ou située vers l'un des pôles de la cellule, tandis que vers le pôle opposé, le contenu vacuolaire témoigne

d'un enrichissement en composés phénoliques précipitables et colorables par le bichromate de potasse.

Ici (comme dans les cas de macules foliaires causées par le parasitisme de champignons), la tendance à la cicatrisation de la lésion est concomitante de la production de composés phénoliques dans les vacuoles des cellules réactionnelles.

LÉSIONS NÉCROTiques DE « RING SPOT ».

La production de composés phénoliques est plus évidente encore dans les cellules des lésions annulaires de « ring spot »,

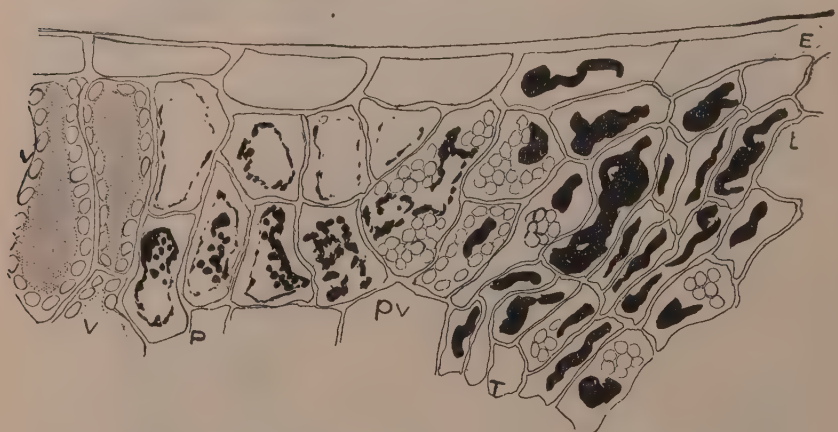


FIG. 9. — Coupe transversale de feuille de Pivoine à la marge d'une tache en anneau. La coloration par le rouge neutre met en évidence, dans les grandes cellules palissadiques, une grosse vacuole centrale (*v*) contenant une solution stable, colorable dans son ensemble (figurée en grisé); les chloroplastes étant régulièrement répartis autour de la vacuole.

A mesure que les cellules sont plus voisines de la région nécrotique, vers la droite de la figure, elles perdent leur caractère palissadique, le contenu vacuolaire est précipité (*p.v.*) par la pénétration du rouge neutre, les plastes s'agglutinent. Enfin, la zone nécrotique est marquée par des cellules aplaties, laminées, ne renfermant plus, dans leur vacuole, de solution colorable vitalement, mais seulement un amas de précipités tanniques (*T*) (figurés en noir).

où certaines cellules du parenchyme palissadique, comprimées et laminées entre les cellules voisines, se réduisent pratiquement à un mince cylindre de matière tannique, autour duquel on ne reconnaît plus ni le cytoplasme ni aucune de ses inclusions (fig. 9, 10, 11).

Entre les cellules d'apparence normale et ce cas extrême de « dégénérescence tannique », tous les intermédiaires existent, caractérisés par un enrichissement progressif de la solution vacuolaire en composés phénoliques et par une instabilité de plus en plus grande. Dans les cellules d'apparence normale, la solution vacuolaire se colore comme telle par le rouge neutre ; dans les cellules affectées, la solution, plus riche en composés phénoliques, floccule avec formation de précipités phénoliques



FIG. 10. — Photographies de deux Tabacs inoculés quinze jours auparavant, par friction d'une feuille avec une mousseline imbibée du jus exprimé : pour le Tabac de gauche, de tissu chlorotique d'une tache annulaire de feuille de pivoine ; pour le Tabac de droite, de tissu vert situé entre les taches annulaires de la même feuille (Photo Ramadier).

d'autant plus nombreux et plus volumineux que les cellules manifestent plus gravement des symptômes nécrotiques.

Ces phénomènes de dégénérescence tannique se manifestent avec un maximum d'intensité dans l'affection des Citrus que Fawcett, en Californie, a étudiée sous les noms de « Psorosis » ou « Scaly Bark » et qui se manifeste sur les feuilles par des lésions annulaires du type « ring spot », sur les troncs par des lésions chancreuses (fig. 12, 13).

Ces lésions se caractérisent histologiquement par la présence



FIG. 41. — Coupe transversale de l'épiderme et du tissu palissadique d'une nervure de feuille de Tabac, au niveau d'une lésion de « Streak » résultant de l'inoculation du virus du « ring spot » de la Pivoine.

S, cellules hyperplasées, nécrotiques et à parois subérifiées, correspondant à la lésion nécrotique; ox, cellules à tétradrades d'oxalate de calcium; pl, cellules plasmolysées, où les plastides, agglutinés, subissent une dégénérescence graisseuse et se dissocient en mettant en liberté les grains d'amidon qu'ils contenaient. Cellules à plastides agglutinés, montrant chacun, dans leurs stroma périphérique [dans l'interstice des grains d'amidon] (a), des gouttelettes de lipides (b) [figurées en noir]; H, cellules hypotoniques, C, cellule saine, où les plastides (p) sont régulièrement rangés à la périphérie de la grosse vacuole centrale (v), contenant une solution colorable par le rouge neutre.

de cellules laminées par les cellules voisines, réduites à une mince vacuole emplie de tannin et entourées de membranes pectiques gonflées; ces cellules étroites et allongées, alignées en file, en imposeraient facilement pour un filament mycélien.

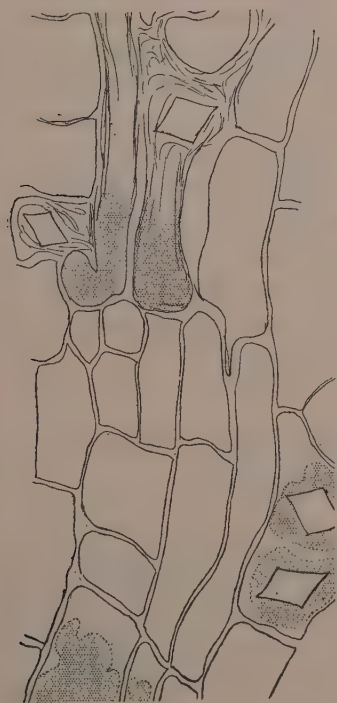


FIG. 12

cado, au niveau d'une lésion de « Sun Blotch » (matériel du professeur Horne, Riverside, Calif), *p* Plastes. *V*, vacuole emplissant la presque totalité d'une cellule palissadique normale; le contenu, figuré en grisé, se colore de façon uniforme par le rouge neutre. *Pv*, précités tanniques, dans les vacuoles des cellules palissadiques correspondant à la lésion nécrotique. *E*, épiderme.

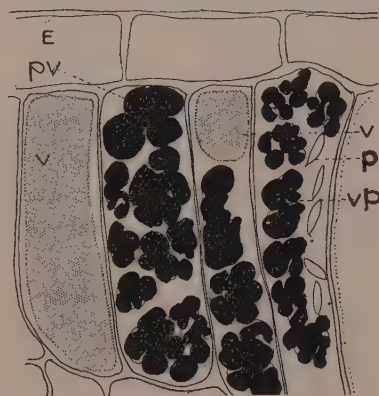


FIG. 13.

FIG. 12. — Coupe longitudinale d'écorce de *Citrus* au niveau d'une lésion de « Scaly Bark » (ou Psorosis A. de Fawcett).

La vanilline chlorhydrique colore électivement les membranes, épaissies gélifiées, des cellules allongées affectées de dégénérescence tannique; des cristaux d'oxalate de calcium se voient dans les vacuoles.

FIG. 13. — Coupe transversale de parenchyme palissadique de feuille d'*Avocado*.

Les mêmes phénomènes histologiques caractérisent la maladie du « sun blotch » des Avocados, étudiée par Horne et Parker en Californie.

DÉTECTION PHOTOGRAPHIQUE DES DÉGÉNÉRESCENCES TANNIQUES.

Bawden a montré que la photographie en lumière infra-rouge, que réfléchissent bien tous les tissus normaux, permet

de déceler facilement les plages de cellules subissant une dégénérescence tannique; les tannins absorbent complètement les radiations infra-rouges et leur présence se trahit (sur l'épreuve positive) par des plages noires correspondant aux taches annulaires du ring-spot sur *N. tabacum*, aux marges de taches nécrotiques sur *N. glutinosa* inoculé par le virus X.

Au contraire, les nécroses brutales, correspondant à des cellules qui sont tuées avant de pouvoir former des composés phénoliques, n'apparaissent pas sur les photographies prises en lumière infra-rouge, alors qu'elles apparaissent bien sur les photographies prises en lumière blanche sur plaques panchromatiques. Telles sont les nécroses causées par le virus X sur le Tabac.

Les contrastes de couleur vert clair-vert foncé qui apparaissent très bien en lumière blanche sur plaque panchromatique n'apparaissent nullement en infra-rouge.

INFLUENCE DES CONDITIONS ÉCOLOGIQUES SUR LA FORMATION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES.

L'étude des taches foliaires causées sur les feuilles de Tabac par le *Bacterium tabacum* nous avait révélé une étroite corrélation entre forte intensité lumineuse, état hygrométrique peu élevé, production précoce et abondante de composés phénoliques dans les vacuoles des cellules réactionnelles et, comme conséquence, cicatrisation des lésions.

Une semblable corrélation semble exister dans le cas de virus du « ring-spot ». Les Tabacs auxquels Price inocule le virus d'un ring-spot réagissent par des nécroses annulaires et résistent à l'infection quand ils sont exposés normalement à la lumière. Ils montrent des lésions translucides et finalement succombent lorsqu'ils sont maintenus à l'obscurité.

RÉSISTANCE DES PLANTES RICHES EN COMPOSÉS PHÉNOLIQUES.

Mackie et Esau ont observé que les Haricots sont généralement susceptibles au virus du « curly-sop », à l'exception des variétés riches en anthocyane, qui sont résistantes.

Symptômes primaires.

Les symptômes primaires qui se manifestent aux points d'inoculations du virus peuvent être évidents lorsqu'ils s'exagèrent au point de provoquer des nécroses : autour de ces nécroses, les cellules réactionnelles accumulent, dans leurs vacuoles, des composés phénoliques décelables histochimiquement ou photographiquement (en lumière infra-rouge).

Les cellules tuées rapidement peuvent conserver dans leurs chloroplastes de gros grains d'amidon, c'est le cas des lésions de la maladie des taches blanches (Dufrénoy).

Symptômes secondaires.

MODIFICATIONS DE LA CHLOROPHYLLE PROVOQUÉES PAR LES MALADIES A VIRUS.

Les noms qui servent à désigner les diverses maladies à virus expriment généralement les modifications de la teinte verte des feuilles, au niveau des tissus chlorophylliens affectés par les virus.

Les lésions primaires se manifestent par une modification de la chlorophylle des cellules affectées par le virus, après que les chloroplastes s'étaient différenciés.

Les lésions secondaires sont généralement des manifestations d'inhibition ou d'exagération du développement des chloroplastes dans des cellules qui se différencient après inoculation du virus.

Les chlorophylles sont des esters d'acides polybasiques, (chlorophyllines) avec deux alcools : a. méthylique et phytol $C^{20}H^{39}CH$.

Les cellules vivantes des feuilles vertes contiennent un ferment du groupe des estérases, la chlorophyllase, qui détache peu à peu le phytol (mais non l'alcool méthylique) pour former un chlorophyllide.

Dans les cellules qui sont tuées brusquement, la chlorophyl-

lase n'a pas le temps d'agir et la chlorophylle demeure intactée. C'est ainsi que la marge des lésions nécrotiques peut rester verte, même après que l'ensemble du reste de la feuille jaunit à l'automne ou s'étiolé à la suite d'un séjour à l'obscurité.

Dans les cellules qui meurent lentement, au contraire, la chlorophyllase dissocie la chlorophylle, et les plastes jaunissent, se décolorent.

LES MALADIES A VIRUS GÉNÉRALISÉES.

Les maladies à virus sont essentiellement des maladies d'inhibition de croissance. Or, toute inhibition de croissance est concomitante d'une inhibition d'utilisation des glucides et, par conséquent, d'une accumulation d'amidon, même dans les cellules méristématiques. Cytologiquement, toute accumulation d'amidon a, pour conséquence, l'évolution de mitochondries en amyloplast, même dans les cellules des bourgeons ou des extrémités de racines, qui normalement ne contiennent que des mitochondries, à l'exclusion de plastes.

Cette inhibition de l'utilisation des glucides, que trahit l'accumulation excessive d'amidon au niveau des points végétatifs, est corrélative d'une inhibition de synthèse des composés protéiques, voire même des amino-acides.

Le ralentissement de croissance lié à une non utilisation des glucides et au ralentissement de la formation des complexes protéiques ou lipoprotéiques qui constitue le cytoplasme, est lié aussi à un ralentissement de la respiration des tissus méristématiques.

MALADIES HYPERTONIQUES ET MALADIES HYPOTONIQUES.

Du point de vue de leur influence sur le métabolisme de l'amidon dans l'ensemble de la plante affectée, nous répartissons les maladies à virus en deux classes.

1° Les maladies hypertoniques, dont le type est la maladie de « l'enroulement de la Pomme de terre » où l'amidon photosynthétique (au lieu d'être transformé en glucides solubles par l'amylase, pour être transporté soit vers les tissus méristéma-

tiques où il serait utilisé à la synthèse de nouvelle substance vivante, soit vers les tissus de réserve histologiquement différenciés) s'accumule sur place dans les chloroplastes des cellules chlorophylliennes dont le suc vacuolaire accumule d'ailleurs du sucre jusqu'à développer une pression osmotique exagérée.

2° Les maladies hypotoniques sont représentées surtout par les mosaïques; au niveau des bourgeons, l'inhibition d'utilisation des glucides provoque bien une stase d'amidon concomitante d'un ralentissement de la respiration, mais, dans les cellules chlorophylliennes, l'inhibition de l'activité photosynthétique provoque une déficience de glucides, une hypotonie du suc vacuolaire et, comme conséquence, des phénomènes d'autolyse comparables à ceux qui peuvent s'observer dans les cellules carencées.

Atténuation et exaltation de la virulence des virus.

LES « PORTEURS DE VIRUS ».

Une plante peut être infectée par un virus sans manifester aucun symptôme pathologique; on peut alors la qualifier de « porteuse de virus », tandis que le virus qui ne révèle pas sa présence est dit « latent ».

VIRUS LATENTS DES SOLANUM.

Parmi les Solanées, et en particulier parmi les Pommes de terre, nous trouvons de nombreux exemples de « porteurs de virus » d'apparence saine, de si nombreux exemples que la quasi-totalité des Pommes de terre réputées saines, surtout aux États-Unis, appartient à cette catégorie, et les auteurs anglais tels que Salaman, K. Smith ou Murphy distinguent les Pommes de terre « d'apparence saine et celles que l'expérimentation a démontré être exemptes de virus ».

Le virus latent des Pommes de terre d'apparence saine est une forme atténuée du virus X capable (sous cette forme atténuée) de provoquer chez le Tabac une mosaïque sans réaction locale tandis qu'une forme plus virulente provoquerait des lésions locales annulaires.

Le *Physalis alkekengi* (Nishimura), le *Nicotiana glauca* (Holmes) ne manifestent aucun symptôme à la suite d'inoculation du virus n° 1 de la mosaïque du Tabac, quoique le virus s'y généralise.

VIRUS LATENTS DU TABAC.

Certains virus n'extériorisent par aucun symptôme leur présence dans le Tabac. Cette présence peut être décelée par l'inoculation, du jus exprimé de ce Tabac, à une plante capable de manifester des symptômes.

La présence d'un virus latent peut aussi être révélée par l'inoculation d'un deuxième virus, réalisant avec le « virus latent » un complexe capable de provoquer des symptômes morbides.

Par exemple, une forme de virus Y qui cause, sur les Pommes de terre « Erdgold », une mosaïque vert foncé aggravée de nécroses, ne provoque aucun symptôme visible chez le Tabac. Mais le Tabac contenant ce virus latent réagit à l'inoculation de virus X par les symptômes typiques du complexe X + Y (Kohler).

EXALTATION DE LA VIRULENCE D'UN VIRUS PAR PASSAGES.

Les virus latents peuvent être considérés comme des formes très atténuées de virus dont la virulence peut être exaltée par passages dans des hôtes convenables.

Par exemple, la virulence de la forme latente du virus X des Pommes de terre peut être exaltée par trois passages successifs dans le Tabac (Johnson). L'inoculation, à une première série de Tabacs, du jus extrait de Pomme de terre contenant le virus X latent, provoque généralement une simple mosaïque, rarement des taches annulaires. L'inoculation, à une deuxième série de Tabacs, du jus extrait de la première série, provoque moins souvent la mosaïque, plus souvent des taches en anneau, et l'aptitude à provoquer des taches annulaires s'exagère au troisième passage.

Après ces passages par Tabac, le virus X inoculé aux Pommes de terre n'y reste plus latent, mais se manifeste par les symptômes habituels du virus X virulent.

K. Smith a isolé de *Solanum capsicastrum* une forme de virus du « spottedwilt » qui, inoculé au Tabac, ne provoquait que des réactions annulaires concentriques sans dommage général pour la plante ; après quelques passages par Tabac, ce virus devenait de plus en plus néfaste au Tabac, provoquant, au lieu de simples taches annulaires, des nécroses étendues, toujours fatales.

Mais cette prétendue exaltation de virus par passages peut n'être que le résultat de la sélection progressive d'une forme particulièrement virulente parmi les diverses formes de virus X existant ensemble à l'état latent dans le jus des Pommes de terre qui a servi à l'inoculation de la première série de Tabacs.

CONSERVATION DE LA VIRULENCE DES VIRUS EN DEHORS DES PLANTES VIVANTES.

Tandis que certains virus perdent leur virulence quelques heures après que le jus infectieux a été exprimé des plantes malades, d'autres virus, et en particulier le virus n° 1 de la mosaïque verte du Tabac, peuvent demeurer virulents pendant plus de vingt ans dans des échantillons de feuilles affectées, conservées en herbier pendant plusieurs mois dans le Tabac à fumer, manufacturé à partir de feuilles malades, et assez longtemps dans certains sols, pour assurer au printemps la contamination de la nouvelle plantation, à partir de débris enfouis de la récolte précédente.

Johnson remarque que le virus de la mosaïque du Tabac conserve sa virulence plus longtemps dans les sols argileux que dans les sols sableux, probablement parce que les phénomènes d'oxydation y sont moins intenses ; l'oxydation est la principale cause de l'inactivation des virus affectant les animaux, les végétaux ou les bactéries.

La persistance plus longue des virus dans les sols argileux, ou de façon générale dans les sols peu aérés, souvent gorgés d'eau, est sans doute une raison pour que la mosaïque s'y manifeste plus tôt ou plus fréquemment que sur les sols sains.

Une autre raison étant que les symptômes d'infection par un virus se manifestent d'autant mieux sur les feuilles d'une plante que ses racines vivent dans un sol riche en toxines laissées par les récoltes précédentes.

SURVIE D'UN VIRUS DANS UN INSECTE VECTEUR. — K. Smith transporte des *Myzus persicae* préalablement infectés par le virus Y sur un premier lot de plantules de Tabac indemnes, puis vingt-quatre heures plus tard sur un deuxième lot, vingt-quatre heures après sur un troisième lot...

Seules sont contaminées les plantules du premier lot, et exceptionnellement celles du deuxième lot; le virus Y reste donc virulent au plus quarante-huit heures dans le puceron, ce qui correspond à sa survie *in vitro*.

Par contre, ce même *Myzus persicae* conserve le virus de « l'Enroulement » virulent même après sept jours, dix jours de séjour sur des plantules douées d'immunité contre cette affection.

ATTÉNUATION D'UN VIRUS PAR PASSAGE SUR UN HÔTE INTERMÉDIAIRE.

Le virus X de la Pomme de terre, après plusieurs passages sur Tabac, peut difficilement s'inoculer à la Pomme de terre; sa virulence pour la Pomme de terre s'atténue tandis qu'elle s'exalte pour le Tabac.

INACTIVATION D'UN VIRUS PAR LE JUS D'UNE PLANTE. — Le virus de la mosaïque du Tabac est inactivé *in vitro* par le jus de *Phytolacca decandra* à la dilution de 1/5, par celui de *Datura stramonium* à 1/200. Cependant, le *Datura* est susceptible de manifester des maladies graves, voire même fatales, à la suite d'inoculation de virus du Tabac.

Le virus du Curly-top s'atténue définitivement par passages sur types de betteraves résistantes et l'atténuation est d'autant plus marquée que le passage se fait sur une betterave qui extériorise moins les symptômes de la maladie. Cette atténuation s'obtient par passages sur des plantes appartenant à diverses espèces : *Chenopodium murale*, *C. album*; Tomate, *Nicotiana rustica*.

Le virus atténué par passage sur *C. murale* reprend sa virulence par passage sur *Stellaria media* (Lackey).

Le virus du curly-top présente souvent des formes atténuées, spontanément. A son sujet, il est intéressant de remarquer que les insectes vecteurs *Eutettix tenella* puisent plus aisément le virus des Betteraves jeunes affectées que des Betteraves plus

âgées, de telle sorte que dans une population d'*Eutettix* le pourcentage des vecteurs de virus augmente beaucoup plus rapidement sur de très jeunes Betteraves que sur des Betteraves plus développées.

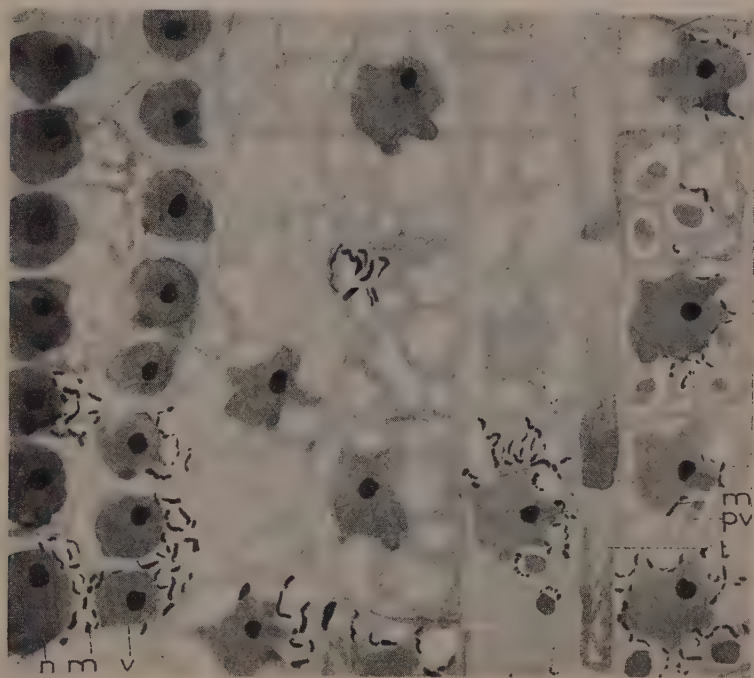


FIG 14. — Coupe longitudinale de parenchyme au-dessus de l'extrémité d'une racine latérale de *Beta vulgaris* affectée de « Curly-top ».

Les cellules embryonnaires, à gros noyau, montrent, dans leur cytoplasme dense, de nombreuses petites mitochondries *m*, autour des vacuoles *v*. Ces cellules qui, vers le haut, devraient se différencier histologiquement et cytologiquement, dégénèrent en accumulant dans leurs vacuoles des composés phénoliques (*p, v*) ; le cytoplasme prend un aspect laqué et les mitochondries ne peuvent plus être mises en évidence, sauf en quelques îlots (*m*). La dégénérescence affecte surtout les cellules de certaines files telles que *t*, qui, laminées entre les cellules voisines, perdent bientôt leur cytoplasme tandis que presque tout leur volume est occupé par une grosse vacuole dont le contenu est particulièrement riche en composés tanniques. (Ces cellules tanniques sont à comparer à celles que nous avons déjà fait connaître dans les nécroses annulaires dites « ring spot » et que Woods a récemment figuré sans les interpréter ; elles sont également homologues des cellules tanniques caractéristiques des lésions de « scaly bark » des *Citrus* et de celles de « Sun Blotch » des *Avocado*.

RÉACTIONS CYTOLOGIQUES PROVOQUÉES PAR LES VIRUS ATTÉNUÉS.

Dans les cas où les formes virulentes de virus provoquent des nécroses brutales, peu favorables à l'étude des modifications biochimiques provoquées dans les cellules affectées, l'inoculation de formes atténuées, permettant une plus longue survie des cellules affectées, permet une étude plus détaillée des troubles métaboliques.

Dans le cas du « curly-top », par exemple, l'étude de Bette-

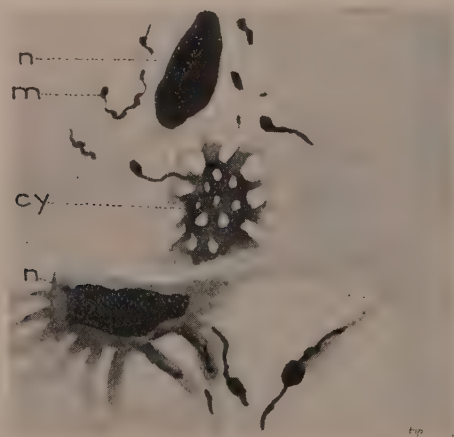


FIG. 15. — Cellules embryonnaires de pointe de racine de *Beta vulgaris* affectée de Curly top. Vers l'un des pôles de la cellule, le cytoplasme acquiert une affinité spéciale pour l'hématoxyline, et forme, autour d'un système de petite vacuoles, un réseau *cy* qui représente l'homologue de ce que les auteurs décrivent généralement, dans les cellules affectées par les virus, comme une inclusion, un « vesiculated-body » ou un « X-body ». Les mitochondries *m*, primitivement très nombreuses entre les petites vacuoles, deviennent de plus en plus difficiles à déceler, à mesure que l'hypercolorabilité du cytoplasme rend la différenciation plus difficile; *n*, noyau.

raves affectées par un virus atténué nous a permis de suivre les modifications cytologiques et histologiques précédant la nécrose des extrémités de racines (fig. 14 et 15).

ATTÉNUATION DE VIRUS PAR LA CHALEUR.

Lorsque des Tabacs, aussitôt après avoir été inoculés avec le virus de la mosaïque, sont conservés à une température cons-

tante de 35-39°, les symptômes de la mosaïque ne se manifestent guère. Le virus s'est cependant généralisé dans la plante, mais ce virus « latent » est « atténué ». Inoculé à des Tabacs, il est incapable, même à température ordinaire, de provoquer plus qu'une mosaïque très bénigne (J. Johnson). Cette atténuation est assez stable pour se conserver après plusieurs passages sur Tabacs à température ordinaire.

GUÉRISON SPONTANÉE D'UNE PLANTE AFFECTÉE DE MALADIE A VIRUS.

En règle générale, un virus qui se généralise dans toutes les parties d'une plante cause une maladie incurable : toutes les parties propagées par voie végétative, bouture, greffe, tubercule, bulbe, étant infectées par le virus, donnent naissance à un « clou » infecté.

Quelques cas de guérison ont cependant été signalés, mais ce sont des exceptions si rares qu'elles n'infirmement pas la règle.

K. Smith, inoculant au Tabac un virus isolé de upin, obtint une maladie suivie de guérison ; inoculant au Tabac le virus du « spotted wilt » des Tomates, il vit les Tabacs, après avoir montré des symptômes morbides, produire des pousses saines et, dans certains cas, s'affranchir totalement de l'infection.

E. M. Johnson a vu des plantes de Pommes de terre se guérir des résultats d'une inoculation du virus de la mosaïque du Tabac.

Dans tous les cas, il ne s'agit pas d'une simple disparition des symptômes, mais bien d'une guérison, c'est-à-dire d'une disparition du virus ; mais il ne s'agit pas d'un phénomène immunologique, car les plantes guéries restent susceptibles de contracter la maladie à la suite d'une nouvelle inoculation du virus.

L'IMMUNITÉ ACQUISE? VIS-A-VIS DES MALADIES A VIRUS.

De ces cas de guérison spontanée (où la plante, affranchie du virus inoculé une première fois, contracte de nouveau la maladie à la suite d'une seconde inoculation), il faut distinguer les cas de vaccination, où une première inoculation de virus atténué, confère une immunité plus ou moins parfaite vis-à-vis

de l'inoculation ultérieure d'une forme virulente de virus du même groupe, ou même d'un virus d'autre groupe.

Thung, inoculant ensemble parties égales de virus n° 1 de la mosaïque banale et de virus n° 6 (de la mosaïque jaune) voit apparaître, sur le Tabac inoculé, les symptômes des maladies de la mosaïque banale et de la mosaïque jaune, et il peut obtenir du jus de ce Tabac malade le virus n° 1 et le virus n° 6. Au contraire, l'inoculation préalable du virus n° 1 inhibe le développement des symptômes de la mosaïque jaune que devrait faire apparaître l'inoculation ultérieure du virus n° 6.

Inversement, un Tabac préalablement infecté par le virus n° 6 ne manifestera pas de symptômes de mosaïque banale après l'inoculation de virus n° 1.

Les expériences les plus remarquables de vaccination ont été effectuées à Cambridge par Salaman qui a montré que les Tabacs ou les *Datura*, vaccinés par une première inoculation d'une forme atténuée de virus X, ne manifestaient aucun symptôme morbide à la suite d'une inoculation postérieure de forme virulente du virus X.

Price remarque que divers *Nicotiana* réagissent à une première inoculation du « ring-spot virus » par des lésions annulaires à la suite de quoi les plantes reprennent l'aspect de plantes saines ; leurs organes, qui conservent le virus sous une forme virulente, ne produisent aucune lésion annulaire à la suite d'une deuxième inoculation.

PRÉSENCE D'ANTIGÈNES DANS LE JUS DE PLANTES AFFECTÉES DE MALADIES À VIRUS.

Purdy Beale, Birkeland, aux Etats-Unis, en 1932, Matsumoto au Japon, en 1933, Salaman en Angleterre et enfin en 1934, Gratia en Belgique, ont montré que l'injection au lapin d'extrait de feuilles de Tabac affecté de mosaïque provoque la formation d'anticorps spécifiques.

Les Tabacs affectés de mosaïque renferment donc un antigène ; dans un Tabac auquel le virus de la mosaïque a été récemment inoculé, la distribution de l'antigène correspond à la distribution du virus, et l'antigène paraît être le virus lui-même.

Les lapins préparés fournissent un sérum précipitant, fixant l'alexine et neutralisant la virulence du virus de la mosaïque du Tabac. Ces réactions sont spécifiques.

Mélangé à son volume de sérum, le jus de Tabac affecté de mosaïque laisse précipiter un sédiment gélatineux entraînant la chlorophylle, tandis que le jus de Tabacs sains ou le jus de plantes affectées de mosaïque autre que celle du Tabac ne montrent pas de floculation.

Les Tabacs qui n'extériorisent aucun symptôme de mosaïque après inoculation de virus ne contiennent pas d'antigène.

Le jus extrait d'un Tabac affecté de mosaïque maintenu six semaines à l'étuve en présence de 4 p. 1.000 de formol laisse déposer un précipité que Gratia considère comme un anavirus qui, en présence du « sérum antimosaïque » correspondant, donne encore une floculation nette.

Salaman, utilisant à la mise en œuvre de ses antigènes les ressources de son Institut de Cambridge, a obtenu les résultats les plus remarquables que nous avons eu la bonne fortune d'observer personnellement.

Le jus d'un Tabac affecté de mosaïque, comme celui d'un Tabac normal, contient un antigène peu efficace capable cependant de provoquer dans le sérum des lapins auxquels on l'inocule un anticorps. Mais le jus du Tabac affecté de mosaïque contient en outre un puissant antigène capable de provoquer dans le sérum du lapin inoculé un anticorps tel que le sérum peut être qualifié d'antimosaïque.

Le jus du Tabac normal n'est floculé ni par le sérum antitabac des lapins préparés par inoculation de jus de Tabac normal, ni par le sérum antimosaïque.

Le jus des Tabacs affectés de mosaïque flocule en présence du sérum antimosaïque, mais non en présence du sérum antitabac.

Le jus d'une plante infectée par un virus contient donc :

1° les antigènes d'une plante normale saine, antigènes que permet d'éliminer une filtration convenable;

2° un antigène spécifique et inséparable du virus.

L'inoculation au lapin de préparations de virus de la mosaïque du Tabac permet d'obtenir un sérum qui précipite spécifiquement les préparations du virus employé pour l'inoculation à une dilution de 1/10^e ou à des dilutions plus grandes et quel que

soit l'hôte ayant hébergé le virus; la réaction se produit sans que baisse le titre en précipiline.

L'antigène paraît donc être ou le virus lui-même, ou une combinaison du virus avec certains autres produits cellulaires.

INACTIVATION DU VIRUS PAR UN SÉRUM ANTI.

Le sérum antimosaique (des lapins préparés par injection de jus de Tabac affecté de mosaïque) est capable d'inactiver le virus dans le jus extrait des Tabacs affectés de mosaïque, comme s'il contenait un principe lytique spécifique (Purdy, 1928; Gratia, 1933; Salaman, 1933-1934).

Le sérum normal du lapin diminue quelque peu le pouvoir infectieux du virus de la mosaïque du tabac, et le sérum « anti-tabac mosaïque » le diminue encore plus.

Chester a montré que le sérum normal du lapin agit seulement sur la susceptibilité de la plante vis-à-vis du virus et non pas sur le virus lui-même. Cette action n'est pas spécifique, et le sérum peut être remplacé par d'autres substances protéiques, extrait de tabac sain, ovalbumine, lait... En plus de cette action, le sérum des lapins ayant reçu des injections de virus de la mosaïque du Tabac, dit « virus immune serum » possède une action spécifique neutralisante sur les virus identiques à celui qui a été inoculé au lapin. Chaque virus est complètement neutralisé par un sérum homologue et n'est pas du tout neutralisé par un sérum hétérologue.

CONSÉQUENCES CYTOLOGIQUES

DES AFFECTIONS CHRONIQUES, SYMBIOTIQUES.

D'Hérelle, signalant la coexistence durable de « Bactéries résistantes » et de Bactériophage dans des colonies mixtes, considère cette association comme quasi-symbiotique et la compare à celle des Endophytes des Orchidées.

Noël Bernard, en infectant expérimentalement les graines d'une certaine espèce d'Orchidée par le *Rhizoctonia* qui infecte naturellement une autre espèce, a provoqué la mort de beaucoup de plantules : certaines, cependant, réagissent victorieusement et réalisent une symbiose.

J'ai étudié cytologiquement les conséquences d'une symbiose, par les méthodes mitochondriales, dans le laboratoire du professeur Knudson, à Cornell. Des embryons d'*Odontoglossum*, en présence d'Endophyte extrait de *Catleya*, succombent en grand nombre à une infection brutale, causant une protéolyse cellulaire. Certains embryons survivent; les cellules infectées restent vivantes, elles conservent leur chondriome; leur vacuome, très fragmenté, s'enrichit en protides solubles. Mais, les réactions les plus remarquables affectent les cellules voisines,

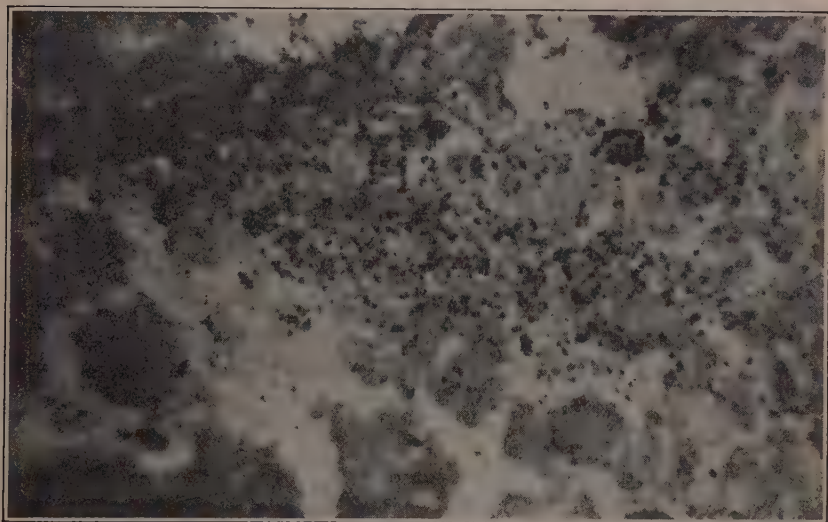


FIG. 16. — Photomicrographie du produit d'écrasement d'une cellule épidermique de feuille de Tabac affectée par le virus n° 1. Après fixation par le liquide de Nemec et mordantage par le tannate de fer, la surcoloration par la fuchsine acide, selon la méthode de Borrel, met en évidence, sur le fond cytoplasmique (gris sur la figure) des granules foncés qui paraissent expulsés des masses représentant le produit d'écrasement des « inclusions ».

non infectées, où le chondriome se divise activement et forme rapidement un grand nombre de plastides, tandis que dans les vacuoles s'accumulent de grandes quantités de composés phénoliques; j'ai donc montré dans ces Annales (43, 218-224, 1929) que les phénomènes cytologiques qui permettent la réalisation d'un équilibre symbiotique sont homologues des phénomènes observés chez les plantes qui manifestent un certain degré de résistance à une infection parasitaire.

Des phénomènes semblables s'observent dans les pédoncules des gousses d'*Arachis hypogea*, qui sont envahies par un champignon endophyte, et de façon générale dans les racines à mycorhizes, ou dans les nodosités radicales, dans les « cladomanies », et même dans tous les cas d'affection parasitaire par un champignon pathogène, lorsque la survie suffisamment longue de la cellule infectée permet l'établissement d'échanges de matériaux solubles entre hôte et parasites.

Les réactions cytologiques provoquées par un parasite ultramicroscopique tel qu'un virus, sont homologues de celles d'un parasite microscopique, à cette différence près que, dans le premier cas, les réactions encadrent un parasite directement visible sous le microscope, dans le deuxième cas, un parasite que seules des techniques spéciales permettent de révéler.

L'analogie des caractères symbiotiques, invoquée par d'Hérelle, entre les associations « Bactérie-Bactériophage » et « cellule Orchidée-Endophyte » est plus évidente encore entre « Cellule tolérante-virus ».

D'ailleurs, les Bactériophages ne représentent que des formes de virus pathogène pour les Bactéries : les Bactéries réagissent à leur pénétration par une fragmentation de leur vacuome, au même titre qu'une cellule sensible réagit par une fragmentation du vacuome à la pénétration du virus.

Enfin, des réactions homologues sont provoquées, dans les cellules de plantes cultivées aseptiquement, à l'abri de tout parasite, par la simple carence alimentaire (Dufrénoy, 1930) et Miss Sheffield (1934) a provoqué expérimentalement toutes les anomalies cytologiques que peut causer le virus de l'« Aucuba mosaic » en faisant absorber au *Solanum nodiflorum* des sels de l'acide molybdénique.

LES RÉACTIONS CYTOLOGIQUES ET LES RÉACTIONS HISTOLOGIQUES CONSIDÉRÉES AU POINT DE VUE IMMUNOLOGIQUE.

Si les cellules vivantes pénétrées par le virus survivent assez longtemps pour permettre au virus de se multiplier et de généraliser l'infection, le virus tend à provoquer, — en outre, des réactions primaires, locales, au niveau des tissus inoculés, — des réactions secondaires dans le reste de la plante ; ces

réactions deviennent évidentes surtout dans les tissus qui croissent et se différencient après l'inoculation. Quoique les résultats ultimes, quant au sort de la plante et au syndrome pathologique, puissent varier considérablement selon la « virulence » du virus inoculé pour le génotype de plante-hôte, le sens des réactions cytologiques est toujours le même; seuls diffèrent la vitesse des réactions et leur stade ultime, qui dépend de la durée de survie.

Le virus intracellulaire tend toujours à provoquer une exagération des surfaces cytoplasmiques autour des solutions vacuolaires où s'accumulent des amino-acides et des composés phénoliques, tandis que des gouttelettes de lipides s'individualisent dans le cytoplasme. Si cette réaction cytologique est étroitement localisée au voisinage immédiat des particules de virus intracellulaires, elle n'empêche ni la multiplication, ni la généralisation du virus, et aboutit seulement à l'ébauche d'une nécrose locale du cytoplasme. Si cette nécrose est plus accentuée, elle devient évidente et se colore électivement, même par les techniques les plus défectueuses, et elle reçoit alors le nom d'« X-body ».

Si la nécrose est plus rapide et plus généralisée, elle aboutit à la mort rapide de cellules ou de groupes cellulaires, et devient évidente alors histologiquement ou même macroscopiquement. Mais, à moins d'être si rapide qu'elle ne se manifeste par une « plasmolyse » du cytoplasme et une « fixation » des inclusions cellulaires, la mort est précédée de l'accumulation de composés phénoliques, dans la solution vacuaire.

Or, qu'il s'agisse de maladies à virus, ou d'autres maladies infectieuses, les phénomènes d'immunité locale se manifestent toujours par la concomitance de ces deux réactions biochimiques antagonistes : production et accumulation dans la solution vacuaire, d'une part, d'amino-acides et de glucides, d'autre part, de composés phénoliques.

Si c'est la première réaction qui domine, l'infection se généralise, et la plante est « sensible »; si c'est la seconde réaction qui domine, l'infection tend à se localiser.

Mais, dans tous les cas, l'excitation pathologique inhibe la synthèse des complexes cytoplasmiques aux dépens des aliments disponibles, avec accumulation corrélative des éléments miné-

raux non utilisés ou des éléments incomplètement métabolisés; elle provoque, en particulier, une instabilité particulière des solutions vacuolaires, et souvent la formation de cristaux ou d'inclusions amorphes.

Toute excitation métabolique, provoquant des troubles métaboliques, provoque des modifications corrélatives des inclusions cellulaires qui représentent le lieu de production, de condensation ou d'accumulation des produits de l'anabolisme ou du catabolisme; ce qui est le plus intangible dans la cellule, ce sont le cytoplasme et les « mitochondries inactives »; si le cytoplasme subit une modification cytologiquement décelable, pour que la cellule survive, cette modification doit être localisée strictement à un faible volume du cytoplasme cellulaire, dont le reste conserve son intégrité.

Malencontreusement, les auteurs qui se sont proposés d'étudier cytologiquement les modifications pathologiques causées par les maladies à virus, ont concentré leur attention sur les « inclusions » facilement colorables après les traitements les plus violents sans se préoccuper d'établir une corrélation entre la structure normale de la cellule et son fonctionnement normal, entre ses modifications locales ou générales et celles du métabolisme.

L'étude cytologique des réactions pathologiques ne donne de résultats intelligibles que pour autant qu'il est admis :

1° Que la structure est la conséquence du fonctionnement cellulaire;

2° Que chaque surface cytoplasmique est le siège de réactions qui lui sont propres et déterminent les rapports morphologiques et topographiques du cytoplasme immédiatement voisin avec les produits du métabolisme local;

3° Que la manifestation de l'activité cellulaire, au niveau de chaque surface cytoplasmique, est la résultante de réactions concomitantes, antagonistes, et qu'un même facteur peut exagérer l'intensité de certaines de ces réactions en inhibant les autres, et que cette modification locale peut, à distance, provoquer des desharmonies contraires du métabolisme.

En dernière analyse, ce qui détermine la généralisation ou la localisation de l'infection par un micro-organisme pathogène, c'est sa vitesse relative de croissance ou de multiplication, et

cette vitesse est fonction des relations biochimiques, dites immunologiques, qui s'établissent entre le pathogène et son hôte. Cette règle paraît absolument générale et East a fait remarquer qu'elle s'applique au tube pollinique croissant dans le style, où il se comporte d'ailleurs en parasite (nous avons observé que la pénétration du tube pollinique dans le micropyle provoque, dans le sac embryonnaire, des réactions homologues de celles que provoque la pénétration d'un sucoir de champignon parasite dans une cellule sensible. Le cytoplasme de la cellule embryonnaire forme autour de l'extrémité du tube pollinique un réseau de trabécules fortement colorables).

En étudiant les groupes interstériles de *N. alata* et *N. sanderæ*, East a démontré que la vitesse de croissance du tube pollinique, dans un style, dépend de l'interaction deux à deux des 15 allélomorphes d'un facteur de croissance S. La croissance d'un tube pollinique d'un parent $S_1 S_1$ est inhibée dans le style d'une plante $S_1 S_1$, elle se fait mieux dans un style $S_2 S_2$ à $S_{15} S_{15}$ et avec une vitesse qui dépend des relations mutuelles des allélomorphes $S_n S_n$ que possède le parent mâle et de ceux $S_m S_m$ que possède le parent femelle.

Il est rare qu'il existe une corrélation entre le degré de susceptibilité et les vitesses de croissance respective du pathogène et de l'hôte. Cependant, certains génotypes de Maïs échappent à une infection générale par le mycélium d'*Ustilago zeæ* du fait que la croissance méristématique de la tige est plus rapide que l'élongation mycélienne, et, la formation de rejets sur certaines plantes infectées par des virus se fait avec une croissance plus rapide que ne se généralise le virus.

Mais, dans bien des cas, la généralisation de l'infection est d'autant plus rapide que l'hôte a lui-même une croissance plus rapide. La seule corrélation qui soit générale est celle que nous constatons entre la rapidité de formation de composés phénoliques et la résistance à la généralisation de l'infection ; l'abondance de composés phénoliques et la pauvreté en amino-acides paraissent inhiber la croissance ou la multiplication des micro-organismes pathogènes. Cette croissance et cette multiplication étant, au contraire, assurées par l'abondance de glucides solubles et d'acides-amino.

INTERPRÉTATION PHYSIOLOGIQUE DES OBSERVATIONS CYTOLOGIQUES.

Quels que soient le virus considéré et la plante hôte sur laquelle s'exerce son action, la réaction cellulaire doit théoriquement se manifester, selon la durée de survie plus ou moins longue de la cellule :

Soit 1°, par un trouble à peine perceptible de l'amylogénèse et de l'amyolyse;

Soit 2°, dans les cellules différenciées : *a*) par une exagération de l'oxydation des glucides, concomitante de l'exagération des phénomènes respiratoires d'entretien; *b*) par une dissociation des complexes lipo-protéiques, souvent localisée à un certain territoire cytoplasmique, qui se différencie en une « inclusion » ou « X body ».

Dans les cellules méristématiques, par une inhibition d'utilisation des glucides, concomitante d'une diminution de la « respiration d'énergie de croissance »;

Soit 3°, par l'accumulation de composés phénoliques dans certaines vacuoles, vers un pôle de la cellule, tandis que, vers l'autre pôle cellulaire, des réactions protéolytiques peuvent prédominer;

Soit 4°, par l'accumulation de composés phénoliques dans l'ensemble de l'appareil vacuolaire et par la mort lente de la cellule;

Soit 5°, par une plasmolyse et une coagulation brutale du cytoplasme; la cellule meurt, comme fixée, avec ses plastes bourrés d'amidon.

Suivant que les nécroses provoquées par la mort de quelques îlots cellulaires sont macroscopiquement évidentes ou non, les auteurs distinguent l'existence ou l'absence de « réactions primaires » aux points d'inoculation du virus, de « réactions nécrotiques secondaires » à la suite de la généralisation du virus.

Holmes, attirant l'attention sur la généralité de la stase de l'amidon aux points d'inoculation du virus, même en l'absence de toute réaction macroscopiquement évidente, a fait connaître la généralité des « réactions primaires » qui diffèrent quant à leur intensité.

L'étude cytologique, par les méthodes mitochondriales,

nous permet de reconnaître tous les intermédiaires qui existent entre la « quasi-fixation » que provoque le virus au niveau des nécroses de « taches blanches », la formation généralisée ou localisée de composés phénoliques, la formation d'un « X body » qui s'impose à l'attention, ou la simple dissociation locale de complexes lipo-protéiques, qui représente le mode banal de réaction cytologique à une excitation localisée.

Immunologiquement, nous distinguons conventionnellement les réactions histologiques localisées (causant des nécroses évidentes) et les réactions du type mosaïque (qui sont essentiellement l'expression de troubles du métabolisme général). Dans ce dernier cas, qui correspond à la généralisation d'une infection chronique, l'étude cytologique des cellules, vivantes ou après fixation mitochondriale, permet d'interpréter : 1° les troubles métaboliques qui causent l'allération de la chlorophylle, et, par conséquent, la panachure caractéristique des mosaïques; 2° l'inhibition de croissance responsable du nanisme et des malformations; 3° la localisation de la réaction cytologique autour des colonies de virus intracellulaire, localisation dont la manifestation la plus évidente a reçu le nom, d'ailleurs dénué de signification cytologique, d'« X-body », nom qui désigne simplement l'expression la plus strictement localisée de l'immunité locale de la cellule.

Conclusions.

L'étude cytologique de plantes affectées par des carences alimentaires, des intoxications, des déficiences chromosomiques ou des maladies parasitaires, en particulier par des maladies à virus, nous conduit aux conclusions suivantes :

L'activité normale de la cellule, édifiée, à partir d'éléments hétérogènes accessibles à l'observation microscopique, une substance, le cytoplasme, dont l'homogénéité et le degré d'hydratation sont telles que l'ultra-microscope même n'y révèle aucune structure. Ce cytoplasme est creusé de vacuoles contenant une solution ou une suspension qui, comme le cytoplasme, paraît optiquement vide.

L'énergie nécessaire à l'absorption des éléments hétérogènes

et à leur homogénéisation est essentiellement fournie par la « respiration d'entretien » et la « respiration de croissance » qui consistent surtout en l'oxydation de glucides provenant de l'hydrolyse, par l'amylase, de l'amidon, produit de photosynthèse.

Certains facteurs peuvent inhiber la « respiration de croissance » et par suite la possibilité d'absorption d'eau ou d'aliments minéraux dissous, ou inhiber l'activité de l'amylase, et par là, priver l'activité respiratoire de son combustible, cependant que peut persister ou s'exalter la respiration d'entretien.

Ainsi peuvent se trouver modifiées les relations nutritives qui lient normalement les divers tissus d'une plante, les diverses cellules d'un tissu, les divers territoires cytoplasmiques d'une même cellule.

L'étude des réactions d'une cellule à l'excitation localisée nous apprend, en effet, que la cellule n'est pas une unité physiologique, mais que, selon l'idée féconde de Warburg, Devaux, Hopkins, chaque surface de contact du cytoplasme avec une de ses enclaves a ses possibilités propres de réactions, que rend évident l'examen microscopique.

La polarisation de la cellule, qu'ébauchent certaines spécialisations physiologiques, s'accuse sous l'influence d'une excitation localisée.

Bien plus, un certain territoire cytoplasmique peut perdre tous les caractères de la vie, acquérir les affinités de réactions chimiques qui, pour Devaux, caractérisent la mort, dans une cellule qui demeure vivante dans son ensemble.

Mais tous les intermédiaires existent entre les réactions en apparence très diverses qui aboutissent à la mort; biochimiquement, ces réactions se ramènent à l'exagération ou à l'inhibition des quelques réactions biochimiques de la cellule vivante, exagération ou inhibition des respirations de croissance ou d'entretien, inhibition de l'utilisation des glucides, inhibition de l'utilisation des amino-acides à la synthèse des complexes lipo protéiques, avec accumulation ou libération de gouttelettes libres de lipides, modifications des équilibres des solutions vacuolaires par enrichissement en amino-acides et en composés phénoliques.

Selon la géniale expression de Lapicque : « Les cellules peuvent mourir pour beaucoup de raisons diverses, mais elles n'ont qu'une façon de mourir. »

Du point de vue immunologique, vis-à-vis des virus ou de tout autre microorganisme pathogène, ce qui importe, c'est la durée de la survie; plus elle est longue, c'est-à-dire plus localisées et moins rapides sont les modifications pathologiques du métabolisme, plus grandes sont les chances pour le parasite d'établir avec les cellules vivantes des relations quasi-symbiotiques, favorables à une infection chronique et généralisée.

Résumé.

En résumé, lorsqu'un virus est inoculé à une plante, les cas suivants peuvent se présenter :

1° L'inoculation du virus ne provoque ni réaction locale évidente, ni manifestation de pathologie générale, et le suc de la plante inoculée ne devient pas infectieux pour d'autres plantes.

On peut seulement dire que la plante ne « prend pas le virus » ; seule l'étude cytologique minutieuse des tissus dans lesquels se fait l'inoculation pourrait révéler si le virus provoque des réactions trop localisées pour devenir macroscopiquement évidentes, mais rentrant, à une échelle microscopique, dans le cadre des résolutions d'immunité locale ;

2° L'inoculation provoque une nécrose locale du type de ce qui a été heureusement appelé « tache d'hypersensibilité » dans le cas des réactions homologues observées chez certaines plantes dites « résistantes » à l'inoculation de certains parasites obligatoires tels que les Urédinées. On comprend, en effet, qu'un parasite obligatoire, qu'il soit virus ou champignon, dépendant absolument pour sa nutrition de cellules vivantes, ne peut subsister qu'autant qu'il établit une relation quasi-symbiotique avec les cellules vivantes de l'hôte. Si les cellules meurent dès qu'elles sont envahies ou sur le point de l'être, aucune généralisation de l'infection n'est possible, l'hypersensibilité cellulaire est concomitante de l'« immunité » de l'organisme ;

3° L'inoculation provoque comme symptôme primaire une

nécrose locale et comme symptôme secondaire une infection générale qui peut se manifester par une mosaïque;

4° L'inoculation provoque une infection générale du type mosaïque compliquée de taches nécrotiques qui apparaissent à distance du point d'inoculation. On peut soupçonner alors qu'il a été inoculé à la plante un mélange de virus;

5° L'inoculation ne provoque l'apparition d'aucun symptôme morbide dans les organes déjà différenciés au moment de l'inoculation. Seuls les organes qui se développent ultérieurement, du fait de l'activité des bourgeons ou des extrémités des racines, montrent des symptômes pathologiques, généralement du type mosaïque. Ces symptômes manifestent surtout un trouble du métabolisme des glucides; ce trouble peut déterminer, chez les feuilles âgées, formées antérieurement à l'inoculation, des phénomènes de carence qui ne sont que la manifestation d'une conséquence indirecte de l'effet du virus;

6° L'inoculation ne provoque l'apparition d'aucun phénomène pathologique évident; cependant, le jus filtré de la plante inoculée devient infectieux pour des plantes sensibles, et d'ailleurs le virus latent dans la plante inoculée peut être révélé par l'inoculation subséquente d'un second virus capable de constituer, avec le premier, un complexe dont l'effet s'extériorise.

On pourrait dire de ces plantes qui jouent le rôle de « porteurs de virus » qu'elles sont tolérantes, en réservant le nom de résistantes à celles qui tendent au contraire à s'opposer, par des réactions nécrotiques d'immunité locale, à la généralisation du virus.

Les virus, pour la plupart, sont remarquables pour la rapidité avec laquelle, à partir du point d'inoculation, ils se répartissent dans l'ensemble d'une plante; pour les virus, comme pour les champignons ou les bactéries pathogènes, il existe une corrélation négative entre la faculté de généraliser l'infection et celle de provoquer chez la plante hôte une réaction histologique évidente.

Certains microorganismes peuvent se multiplier dans des tissus de l'hôte sans provoquer, au moins pendant un certain temps, de symptômes pathologiques évidents.

De même, il existe des virus « latents » capables de se géné-

raliser dans une plante hôte sans y faire apparaître de réaction décelable par l'observation directe.

D'autres virus, sans provoquer aucune réaction évidente des tissus au niveau desquels ils sont inoculés, se généralisent dans la plante pour affecter seulement le métabolisme et le mode de différenciation des tissus formés par les bourgeons, postérieurement à l'infection : les cellules affectées restent vivantes, et tendent à localiser le virus à un certain territoire cytoplasmique différencié en inclusion.

Enfin, d'autres virus provoquent une réaction locale au point d'inoculation et cette réaction peut, dans certains cas, être interprétée comme la manifestation d'un phénomène d'immunité locale prévenant, au prix d'une nécrose de quelques cellules, la généralisation du virus.

Bien entendu, un même virus qui généralisera son infection, sans réaction locale dans une plante « susceptible » peut provoquer une réaction qui localise sa répartition dans une plante « résistante ».

Un virus ne paraît capable de se multiplier qu'aux dépens d'une cellule vivante, sa généralisation, par conséquent, exige que survivent les cellules affectées ; au contraire, toute nécrose cellulaire des cellules infectées et des cellules voisines menacées d'infection, a pour conséquence la localisation de cette infection. A cet égard, les phénomènes d'immunité locale chez les plantes affectées par une maladie à virus sont comparables aux phénomènes d'immunité locale observés à la suite d'infection par bactérie ou champignon.

BIBLIOGRAPHIE

- BALD (J. G.) et SAMUEL (G.), Some factors affecting the inactivation rate of the virus of Tomato spotted wilt. *Ann. Appl. Biol.*, 21 : 179-190, 1934.
- BAWDEN (F. C.), Foliar necrosis of the potato. *Proc. Royal. Soc. London*, 116 : 375-395, 1934.
- BEALE (H. P.), The serum reactions as an aid in the study of filterable viruses of plants. *Cont. Boyce Thomp. Instit.*, 6 : 407-434, 1934.
- BIRKELAND (J. M.), Serological studies of plant viruses. *Bot. Gaz.*, 95 : 419-437, 1934.
- BOTTES (J. G. O.), Attenuation du virus de top necrosis et immunité acquise des Pommes de terre pour ce virus. *Tijdschr. over Plantenziekten*, 39 : 249-262, 1933.
- CALDWELL (J.), The physiology of the virus diseases of plants. *Ann. Applied. Biol.*, 22 : 68-85, 1935.

- CHESTER (K. S.), Specific quantitative neutralization of the viruses of tobacco mosaic, tobacco ring spot and cucumber mosaic by immune sera. *Phytopath.*, 24 : 1180-1203, 1934.
- DUFRENOY (J.) et DUFRENOY (M. L.), Cytology of plants affected by viruses. *Phytopatology*, 24 : 559-619, juin 1934.
- DUFRENOY (J.) et SHAPOVALOV (M.), Cytological changes in the callus of the graft union in connection with curly top in tomatoes. *Phytopatology*, 24 : 1116-1118, 1934.
- DUGGAR (B. M.) et HOLLANDER (A.), Irradiation of plant viruses. *Journ. Bacteriol.*, 27 : 249-256, 1934.
- FAWCETT (H. S.), Is Psorosis of Citrus a virus disease? *Phytopath.* 24 : 659, 668, 1934.
- GRATIA, Identification sérologique et classification des virus des plantes. *C. R. Soc. Biol.*, 115 : 1239, 1934.
- JONES (L. K.), ANDERSON (E. J.) et BURNETT (G.), The latent virus of Potatoes. *Phyt. Zeitsch.*, 7 : 93-117, 1934.
- KOHLER (E.), Virus krankheiten der Kartoffel. *Phyt. Zeitsch.*, 7 : 1-31, 1934.
- KUNKEL (L. O.), Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. *Phytopath.*, 24 : 437-466, 1934.
- LACKEY (C. F.), Restoration of virulence of attenuated curly top virus. *Journ. Agric. Research.*, 44 : 755-765, 1932.
- MASUMOTO (T. W.) et SOMAZAWK, Immunological studies of mosaic diseases. *Journ. soc. trop. Agric.*, 5 : 37-43, 1933.
- QUANJER, Ueber eine Komplexe Viruskrankheit der Tabaks. *Phyt. Zeitsch.*, 6 : 325-335, 1933.
- PETRI (L.), Sopra sa causa dell'arriciamento (court noué) della vite. *Rend. R. Acad. Lincei*, 19 : 139-134, 1934.
- RISCHKOV et KARATSCHEWSKI. Ueber die Entstehung von Fern Leaf bei Tomaten. *Phytop. Zeitschr.*, 7 : 231-244, 1934.
- RIVERA (V.), I virus filtrabili. *Mem. 45, Labo. Patolog. Vegetal, Istituto agrar. Perugia*, 1934.
- SALAMAN (R. N.), Protective inoculation against a plant virus. *Nature*, 131, 468, 1933.
- SÉVERIN (H. H. P.) et FREITAG (J. H.), Some properties of the curly top virus. *Hilgardia*, 8 : 1-48, 1933.
- SMITH (K. M.), Recent advances in the Study of virus diseases. Churchill, London, 1933. (Bibliographie jusqu'en 1933.)
- STOREY (H. H.), The photodynamic action of methylene blue on the virus of a plant disease. *Ann. Appl. Biol.*, 21 : 588-590, 1934.
- STANLEY (W. M.), Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. *Phytopath.*, 24 : 1269-1289, 1934.
- TAKAHASHI (W. N.) et CHRISTENSEN (R. J.), The virucidal action of high frequency sound radiation. *Science N. S.*, 79 : 415-416, 1934.
- WHITAKER (T. W.) et CHESTER (K. S.), Precipitin reactions in plants. *Amer. Journ. Bot.*, 20 : 297-308, 1933.
- WILHELM (A. F.), Antikörperbildung im pflanzlichen organismus. *Zentrabl. Bakt.*, 89 : 108-143, 1933.
- WOODS (M. W.), Intracellular bodies associated with ring spot. *Contr. Boyce Thompson Institute*, 3 : 419-434, 1933.

Le Gérant : G. MASSON.